ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME III *N° 4* *DECEMBRE 1930*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RECHERCHES SUR LE ROLE DES PLAQUETTES SANGUINES DANS L'IMMUNITÉ LA FONCTION ANTIXÉNIQUE DES PLAQUETTES

(Deuxième Mémoire)

par

Cornelia POPESCO-COMBIESCO

(Travail de l'Institut de Sérums et Vaccins
et du Laboratoire de Médecine expérimentale de Bucarest)

I

Dans un mémoire antérieur, nous avons montré que les plaquettes sanguines, à côté de leur rôle d'emplaquettement *in vitro* bien étudié par différents auteurs, se comportent, vis-à-vis de divers antigènes, à la façon de véritables anticorps. Cette propriété est généralement plus marquée chez les plaquettes provenant d'animaux immunisés que chez celles d'animaux normaux. D'autre part, nos propres recherches nous avaient montré que les plaquettes sont capables d'adsorber différents anticorps (hémolysines, agglutinines, sensibilisines) qu'elles ne laissent diffuser

dans le milieu ambiant qu'à partir du moment où une notable altération physique s'est produite dans leur structure (lavages répétés, chauffage à 56°).

Dans une nouvelle série d'expériences, nous nous sommes proposés d'étudier, à l'aide des frottis du sang et des coupes histologiques, les relations qui s'établissent *in vivo* entre les bacilles typhiques et les plaquettes du sang.

Delrez et Govaerts ont suivi l'élimination des différents germes introduits dans la circulation d'un animal en pratiquant des prélèvements successifs de sang carotidien et des frottis de foie, rate, poumon ou des reins chez des animaux sacrifiés à différents intervalles après l'inoculation. A cette occasion, ils ont constaté la disparition simultanée des plaquettes et des micro-organismes du sang circulant, en les retrouvant sur les frottis des organes examinés. Govaerts a retrouvé de même des amas de microbes et de plaquettes sur les coupes histologiques des organes des cobayes sacrifiés quatre minutes après l'injection de colibacilles. Ces auteurs ne nous disent rien du processus d'emplaquettement qui suit immédiatement une inoculation intraveineuse; or, nos propres recherches nous ont montré que les phénomènes que l'on peut saisir peu de secondes après l'injection sont de la plus grande importance relativement à la connaissance du mécanisme intime de l'élimination.

D'autre part, le sort des plaquettes au cours des heures qui suivent leur fixation à l'intérieur du réseau capillaire ne semble pas avoir été poursuivi par eux. Aussi nous a-t-il semblé intéressant de reprendre avec minutie l'étude générale de réaction de défense cellulaire qui accompagne la pénétration dans le sang des germes pathogènes, en nous appliquant surtout à l'étude du rôle des plaquettes dans ce processus.

Des recherches de C. Bull et C. Mac Kee, Delcourt Bernard et Govaerts, il résulte que la stérilisation du torrent circulatoire peut se produire sans que l'intervention des plaquettes soit nécessaire. Pour C. Bull et C. Mac Kee, le rôle principal dans l'élimination des bactéries du sang revient aux agglutinines normales ou acquises par l'immunisation.

L'agglutination des micro-organismes constitue le phénomène initial pour les germes agglutinables et l'emplaquettement est primitif si les agglutinines normales n'existent pas. D'autre part, la disparition des germes du sang s'effectue plus rapidement chez les lapins traités par le sérum antiplaquettique que chez les animaux témoins.

Delcourt Bernard obtient les mêmes résultats chez les lapins soumis à l'intoxication saponique qui détermine une réduction du nombre des plaquettes. Cet auteur trouve aussi que l'agglomération des plaquettes en gros amas n'est pas indispensable pour l'élimination des germes. Inoculant de la peptone chez les animaux pour empêcher l'agglutination de ces éléments, Delcourt Bernard observe néanmoins l'élimination rapide des germes qui s'accolent énergiquement aux plaquettes restées isolées ou réunies en petits groupes.

Govaerts constate de même que chez le cobaye traité avec le sérum antiplaquettique, la disparition des germes s'effectue plus rapidement que chez l'animal témoin.

Le Fèvre de Arric, en maintenant des particules de charbon au contact de divers extraits cellulaires, a fait voir que le principe « adhésif », qui fait accoler les germes des particules aussi impressionnées, est infiniment plus abondant dans les extraits leucocytaires ou les extraits de rate que dans les extraits de plaquettes.

Pour l'élimination des micro-organismes inoculés dans le torrent circulatoire, l'intervention des agglutinines et des plaquettes n'est pas seule à se manifester. Il faut y ajouter aussi l'action phagocytaire, surtout des cellules endothéliales des capillaires du foie et de la rate.

Les travaux de Oerskow et de Domagk démontrent très bien la rapidité avec laquelle les bactéries introduites dans l'organisme sont arrêtées par les cellules endothéliales et phagocytées, cette phagocytose étant plus accentuée chez un animal immunisé que chez un animal normal.

II

Nos expériences ont porté sur quatre catégories d'animaux :

1° Première série : lapins normaux;

2° Deuxième série : lapins normaux préalablement traités par une injection de sérum antiplaquettique ;

3° Troisième série : lapins immunisés contre le bacille typhique ;

4° Quatrième série : lapins immunisés contre le bacille typhique, puis traités par une injection de sérum antiplaquettique.

Technique générale

Dans le but d'immuniser nos lapins contre le bacille typhique, nous leur faisions, à 2 jours d'intervalle, des inoculations : la première, par voie intrapéritonéale, au moyen de bacilles tués par la chaleur à 60° (1/10 de culture de vingt-quatre heures sur gélose) ; la seconde, par voie intraveineuse, avec la même dose de bacilles tués ; les quatre dernières, au moyen de bacilles vivants inoculés dans les veines (même dose que plus haut). Le pouvoir agglutinant de leur sérum était titré 9 jours après l'inoculation. On n'employait, pour l'expérience définitive, que les animaux présentant un titre agglutinant d'au moins 1/15.000.

Les animaux fournisseurs de sérum antiplaquettique étaient des cobayes ayant reçu, en injection intrapéritonéale, des émulsions de plaquettes de lapin, selon la méthode fixée par Le Sourd et Pagniez (1911). Le sérum ainsi préparé et injecté par voie intraveineuse à des lapins, une heure avant l'expérience définitive, faisait baisser, pendant cet intervalle de temps, la proportion de plaquettes au dixième environ de leur total primitif. On retrouve dans les sinus de la rate, sous forme de larges nappes, des plaquettes porfondément altérées à la suite de l'action de sérum spécifique ; celles qui persistent, malgré l'injection dans le sang circulant, présentent elles-mêmes des signes d'altération profonde; elles sont gonflées, comme hydropiques, la substance chromatique étant amassée au centre de l'élément et formant de fines granulations.

Les animaux appartenant à la seconde et à la quatrième séries, signalées plus haut, recevaient dans les veines 2 centicubes de ce sérum une heure avant l'inoculation de bacilles vivants. Dans toutes nos expériences, nos animaux recevaient dans les veines 2/3 d'une culture de bacilles d'Eberth de vingt-quatre heures, émulsionnés dans 2 centicubes de solution physiologique à 9/1000. Parmi nos animaux en expérience, les uns étaient réservés pour l'étude des processus qui s'accomplissent dans les gros vaisseaux (artères et veines). Les autres servaient à la fixation des organes destinés à l'étude histologique sur coupe. Chez les premiers, le sang destiné aux frottis était prélevé sur l'animal vivant soit dans la carotide, soit dans la veine jugulaire à des intervalles rapprochés variant de 5 secondes à 10 minutes après l'inoculation. Les autres étaient sacrifiés par rupture du bulbe à des intervalles de 5 secondes, 1 minute, 5 minutes, 30 minutes, 2 heures et 6 heures

après l'injection intraveineuse. Les organes (poumons, foie, rate) étaient fixés dans le liquide de Dominici, inclus à la paraffine et colorés par la solution de Giemsa, selon la technique décrite par Le Sourd et Pagniez.

Nous avions toujours soin, pour empêcher l'affaissement du poumon, de fermer la trachée au moyen d'une pince hémostatique avant l'ouverture de la cavité pleurale : l'organe était immergé en entier dans le liquide fixateur.

III

Animaux normaux.

Examen du sang sur frottis colorés

En examinant alternativement le sang de la jugulaire et le sang de la carotide récolté à des intervalles rapprochés, on voit se dérouler la série des aspects suivants :

A) *Au bout de 5 secondes : sang de la jugulaire.* — Bacilles libres non agglutinés en grand nombre. Nombreux petits amas de plaquettes d'aspect normal, ayant conservé leur individualité et contenant d'assez nombreux bacilles. Un certain nombre de ces amas sont en état de lyse : ils sont fusionnés, ont perdu leur contour et forment autant de petits plasmodias parsemés d'amas chromatiques restés intacts ; ils contiennent tous un certain nombre de bacilles. Çà et là, mais rarement, on trouve de volumineux amas de plaquettes complètement lysés ayant perdu leur contour et constituant de véritables magmas à centre amorphe et colorés d'une façon homogène. A la périphérie, des plaquettes d'aspect intact forment des traînées qui confluent vers les plasmodias que nous avons décrits. A l'intérieur de ces amas lysés, les bacilles abondent, mais surtout sous forme de granules. Un certain nombre de leucocytes polynucléaires ont pénétré dans ces amas, mais le processus phagocytaire semble à peu près nul (voir fig. 1 et 2) ;

B) *Au bout de 30 secondes : sang de la carotide.* — Très peu d'amas de plaquettes et toujours sous forme d'amas très petits. Absence presque complète de leucocytes. Le nombre des microbes libres est beaucoup moins grand.

Il n'est pas douteux, d'après cela, que les amas de plaquettes, de même que les leucocytes constatés dans la jugulaire aussitôt

après l'injection, ont été retenus dans quelque organe central (comme on le verra d'après l'étude des coupes, cet organe est le poumon);

c) *Au bout de 1 minute : sang de la jugulaire.* — Amas de plaquettes plus rares, les leucocytes ont disparu. Le nombre des microbes libres est minime. La rétention signalée plus haut s'est accentuée;

d) *Au bout de 3 minutes : sang de la jugulaire.* — Ici le tableau a changé et nous assistons à une phase nouvelle du phénomène. On ne constate plus la présence de bacilles libres. Le sang abonde en très gros amas de plaquettes : les uns, composés de ces éléments fusionnés entre eux, ayant perdu leur contour, mais conservant encore leur chromatine, sont bourrés de bacilles ; les autres, qui forment des magmas amorphes dont le contenu, complètement lysé, ne laisse plus apercevoir de plaquettes individualisées, renferment des microbes transformés en granules. Ces amas, qui se présentent sous forme de taches uniformément colorées en violet, sont envahis par les polynucléaires. Çà et là, des polynucléaires libres, isolés, ayant abondamment phagocyté. Cet aspect nous indique que bon nombre d'amas, momentanément retenus dans le poumon, ont été repris par la circulation générale;

e) *Au bout de 3 minutes : sang de la carotide.* — Contrairement à ce qu'on observe au même moment dans le sang de la jugulaire, le sang de la carotide ne contient qu'un nombre minime d'amas de plaquettes; quant aux leucocytes, ils sont complètement absents. Çà et là, une bactérie libre.

Donc, on doit logiquement conclure que les amas de plaquettes, ainsi que les leucocytes au fur et à mesure de leur rentrée dans la circulation générale, subissent une nouvelle rétention dans les organes centraux;

f) Le sang de la carotide, examiné au bout de 5 minutes, est presque complètement vide de plaquettes comme de leucocytes. Cet état de vacuité du sang artériel se retrouve également 10 minutes après l'injection, et correspond à une rétention définitive des microbes emplaquettés dans les organes. Lorsque, au bout d'une heure, le sang s'est peuplé à nouveau de globules blancs et de globulins, ceux-ci se présentent de nouveau à l'état isolé et ont repris leur aspect normal.

De ces premières séries de constatations, nous pouvons conclure que, dans le sang de l'animal normal, le phénomène de l'empla-

quettement des microbes par les amas de plaquettes agglomérées est des plus rapide (5 secondes); que ce phénomène d'emplaquettement s'accompagne rapidement de lyse des plaquettes et qu'à l'intérieur des amas lysés, il se fait une abondante transformation granulaire des bactéries (3 minutes). Ces amas, après des alternatives rapprochées de rétention dans les organes centraux et de rentrée dans la circulation générale, finissent par être définitivement fixés dans les premiers : cette fixation définitive semble déjà effectuée au bout de 5 minutes. A ce moment, on ne constate presque plus au microscope de bactéries libres dans le sang. Quant à la phagocytose, elle ne joue dans le sang circulant qu'un rôle tout à fait réduit.

Examen des coupes histologiques

a) *Poumon.* — 5 secondes après l'inoculation intraveineuse, les capillaires contiennent de très nombreuses plaquettes agglomérées en petits amas et contenant des bacilles; dans les amas, les plaquettes ont conservé leur individualité. Ils sont entourés de nombreux polynucléaires, bourrés de bacilles. On ne voit guère de bacilles libres.

Une minute après l'inoculation, les capillaires sont absolument bourrés de plaquettes agglomérées en amas, en traînées et en réseaux auxquels adhèrent de très nombreux bacilles typhiques, et à l'intérieur desquels beaucoup de ces bacilles ont subi la transformation granulaire, sans que l'on puisse dire si la collaboration des leucocytes a une part quelconque à cette transformation. En effet, de très nombreux polynucléaires qui, à un certain point, bouchent les capillaires à la façon de véritables embolies, semblent généralement restés extérieurs aux amas des plaquettes. Ces polynucléaires sont bourrés de microbes dont beaucoup sont gonflés, ont perdu partiellement leur affinité basophile et ont subi la transformation éosinophile tant de fois décrite pour toutes espèces d'infections (voir fig. 3).

Au bout de 5 minutes, on constate une diminution sensible du nombre des plaquettes; par contre, les leucocytes polynucléaires remplissent les capillaires et sont bourrés de microbes dont beaucoup ont subi la transformation éosinophile. 30 minutes après l'injection, l'aspect du poumon a complètement changé, on ne trouve presque plus des plaquettes dans les capillaires; par contre, ceux-ci sont remplis de polynucléaires bourrés de grains

éosinophiles, de toutes formes et toutes dimensions, dont beaucoup proviennent incontestablement de la transformation éosinophile des bactéries. De plus, le tissu conjonctif périalvéolaire est envahi en quantité énorme par de grands monocytes (éléments du tissu réticulo-endothélial), caractérisés par la structure réticulée de leur cytoplasma, les mailles du réticulum étant distendues de liquide. Beaucoup de ces éléments jouent le rôle de macrophages et contiennent des restes de polynucléaires bourrés de grains éosinophiles; ils sont souvent binucléés, et certains présentent des figures de karyokinèses. Les espaces lymphatiques, aussi bien que la lumière des veines, contiennent en abondance des monocytes à protoplasma fortement basophile, ne contenant pas des inclusions et appartenant au type des plasmazellen. Nous assistons là à une nouvelle phase de la réaction inflammatoire locale. Les bacilles ont complètement disparu. Ce même aspect se retrouve sur les coupes de 2 heures et de 6 heures; dans ce dernier cas, les alvéoles pulmonaires contiennent en abondance des cellules à poussière et des monocytes à cytoplasma réticulé provenant, par immigration dans l'intérieur des alvéoles, des éléments du tissu conjonctif.

Comme on le voit, la disparition des plaquettes à l'intérieur des capillaires pulmonaires coïncide avec la réapparition dans le sang de la circulation générale de ces mêmes éléments sous forme de gros amas bourrés de granules microbiens (cas de 3 minutes) ;

B) *Coupe du foie.* — Au bout de 5 secondes, la réaction dans le foie est à peu près nulle. Çà et là, de rares leucocytes contenant quelques bacilles, très peu de plaquettes.

Une minute après l'inoculation, on trouve déjà d'énormes paquets de plaquettes dans les veines, dans les espaces de Kiernan (système porte). Ces paquets obturent presque complètement les veines et contiennent une grande quantité de bacilles typhiques. Les phagocytes y ont pénétré en grand nombre et sont chargés de microbes. A leur périphérie se trouvent également des phagocytes bourrés de microbes. Çà et là, les amas de plaquettes sont lysés au centre; ces éléments ne conservent leur individualité qu'à la périphérie. On constate donc à ce stade un double phénomène simultané et distinct : emplaquettement énergique d'une part, phagocytose intense de l'autre. Cette double réaction est simultanée, bien que les deux phénomènes semblent se produire d'une manière indépendante l'un de l'autre. A ce moment, la réaction est presque nulle dans le réseau capillaire intralobu-

laire, et les veines sus-hépatiques centro-lobulaires sont vides (voir fig. 4 et 11).

Au bout de 5 minutes, l'accumulation des plaquettes a atteint son maximum. Les amas sont entrés en lyse en de nombreux points; aussi bien dans les veines portes qu'à l'intérieur des capillaires intralobulaires, on trouve de nombreux amas réduits à l'état de masse amorphes se colorant d'une façon homogène lilas gris, contenant de nombreux bacilles non phagocytés souvent réduits en granulations. Tout alentour de ces résidus de plaquettes, on note une intense réaction phagocytaire à laquelle participent les polynucléairess ainsi que les cellules de Kupffer souvent mobilisées.

Au bout de 30 minutes, le nombre des amas de plaquettes a diminué considérablement et elles sont disséminées dans toute l'étendue du lobule d'une façon beaucoup plus uniforme. A ce moment, le rôle des plaquettes semble terminé, et la réaction phagocytaire se poursuit dans tous les points du réseau capillaire avec une grande énergie ; les cellules de Kupffer y participent activement et les éléments du système réticulo-endothélial bourrés de microbes sont partout associés aux polynucléaires (voir fig. 5).

Au bout de 2 heures, la réaction cellulaire est presque terminée. Les vaisseaux petits ou grands sont vides de plaquettes. Çà et là adhèrent encore aux parois quelques restes d'amas lysés qui n'ont pas encore été entraînés par le courant circulatoire. Les cellules de Kupffer sont encombrées de résidus provenant probablement de la destruction intracellulaire des plaquettes et des polynucléaires. On trouve encore de rares bacilles à l'intérieur des polynucléaires altérés et de ses cellules de Kupffer. 6 heures après l'injection, le foie a repris son aspect normal.

Comme on le voit, la réaction antimicrobienne (emplaquettement et phagocytose) commence un peu plus tard que dans le poumon. Elle débute dans les veinules des espaces de Kiernan, elle progresse assez lentement à travers le réseau capillaire intralobulaire jusqu'aux veines centro-lobulaires. Le maximum de la réaction a lieu entre 5-30 minutes après l'injection. Les résidus de la réaction inflammatoire sont partiellement détruits sur place à l'intérieur des cellules de Kupffer; le reste est charrié plus loin et, comme nous le verrons, s'arrête définitivement dans la rate. Notons, comme nous l'avons fait pour le poumon, la fonte rapide des amas de plaquettes et la transformation granulaire des microbes qui s'accomplit au sein de ces amas.

Rate. Cas de 5 secondes. — Les coupes présentent un aspect sensiblement normal, très rares bactéries libres.

Cas de 1 minute. — Le tableau a changé complètement. Plaquettes en nombre énorme, très altérées, la plupart réduites à un point chromatique, les unes libres plus ou moins isolées, en général adhérentes aux parois des sinus, beaucoup dans l'intérieur des grands macrophages. Pas de bactéries libres. Assez nombreux polynucléaires renfermant des bactéries.

Cas de 5 minutes. — Les sinus sont littéralement remplis de plaquettes toutes en dégénérescence; elles forment des traînées, des réseaux, beaucoup sont isolées; pas d'amas. Toutes sont réduites à un ou deux points chromatiques qui encombrent les sinus à la façon d'une véritable poussière. Les macrophages distendus ou étalés sont bourrés des restes de plaquettes. Nombreux polynucléaires et nombreux macrophages tellement bourrés de bacilles qu'on n'en distingue plus que le noyau.

Cas de 30 minutes. — Presque plus de plaquettes visibles, ni à l'extérieur ni à l'intérieur des cellules, leur fonte est achevée. On constate une destruction massive des polynucléaires à l'intérieur des macrophages dont le cytoplasma est littéralement bourré de restes de noyau en pycnose (voir la fig. 6).

Cas de 2 heures. — La réaction tire à sa fin. Plaquettes complètement absentes. Çà et là, reste de noyaux en pycnose dans les macrophages. Plus de bactéries visibles.

Cas de 6 heures. — La rate a pris son aspect normal. Ainsi donc la rate ne se présente pas comme un lieu d'emplaquettement. Les plaquettes qui sont retenues arrivent dès le début dissociées et en état de dégénérescence. Cette accumulation de plaquettes en dégénérescence amenées de tous les points de l'organisme est à son maximum au bout de 5 minutes. La fonte et la disparition de ces éléments usagés s'opère avec une étonnante rapidité. Leur rétention dans les sinus de la rate est antérieure à celle des polynucléaires chargés de microbes. Sans doute y a-t-il là quelques conditions de viscosité ou de tension superficielle spéciale qui détermine, dès le début du processus d'élimination, leur adsorption par les éléments endothéliaux de ces lacunes. Ces conditions ne semblent se réaliser pour les polynucléaires qu'un peu plus tardivement. Au bout de la première demi-heure, la rate représente un véritable cimetière où vient aboutir la réaction inflammatoire qui a pris naissance dans le poumon et s'est constituée

dans le foie. Là aussi disparaissent rapidement à l'intérieur des macrophages lacunaires les phagocytes polynucléaires qui ont ramené les bactéries recueillies dans les diverses régions de l'organisme infecté.

IV

Animaux normaux déplaquettisés.

Il s'agit ici de lapins normaux ayant reçu, une heure avant l'inoculation de bacilles dans les veines, une injection intraveineuse de sérum antiplaquettes (2 centicubes).

Examen du sang sur frottis colorés

A) *Dans le sang de la jugulaire recueilli 5 secondes* après l'injection, on trouve de très nombreux bacilles libres non agglutinés; de rares plaquettes gonflées, ayant leur substance chromatique amoncelée au centre; parfois, ces plaquettes forment de petits groupes de deux à trois éléments avec bacilles accolés à la périphérie. Peu de polynucléaires, phagocytose nulle;

B) *Dans le sang de la jugulaire, au bout de 1 minute 1/2,* on ne voit plus de plaquettes libres, quelques amas de ces éléments retiennent des bacilles, le nombre de ces derniers a considérablement diminué. Très peu de leucocytes, pas de phagocytose ;

C) *Sang de la carotide au bout de 2 minutes* : presque plus de bacilles libres, presque plus de plaquettes. Leucocytes très rares;

D) *Sang de la jugulaire au bout de 3 minutes* : on ne voit presque plus de plaquettes, il n'y a plus de bacilles libres;

E) *Sang de la carotide, 5 minutes* après l'injection : plaquettes, bacilles et leucocytes sont également absents.

Comme on le voit, le tableau sanguin diffère de celui que l'on constate chez les animaux non déplaquettisés. Le nombre des plaquettes, très rares dès le début, ne tarde pas à devenir nul. L'on ne voit plus apparaître les gros amas qui, dans le cas précédent, avaient envahi le sang veineux au bout de 3 minutes. Malgré cela, la disparition des bacilles du sang n'a pas été retardée, elle semble même s'être effectuée plus rapidement que chez les animaux non déplaquettisés.

Examen sur coupes histologiques

Poumon. — Lorsque l'on compare les renseignements que nous apporte l'étude des coupes du poumon, du foie et de la rate, avec ce que nous avait fourni l'étude microscopique de ces mêmes organes chez les animaux non déplaquettisés, l'on constate ce qui suit : le processus phagocytaire est sensiblement le même dans les deux cas, en ce qui concerne le poumon et le foie, sauf l'absence a peu près totale de plaquettes dans les capillaires sanguins de ces deux organes. Cependant, la résorption leucocytaire des bactéries se fait plus lentement chez l'animal déplaquettisé; c'est ainsi que, deux heures après l'inoculation virulente, on trouve encore dans les capillaires pulmonaires, ainsi que dans les capillaires intralobulaires du foie, un grand nombre de leucocytes polynucléaires chargés de bactéries (la plupart ayant subi la transformation éosinophile, d'autres conservant encore leurs affinités basophiles); à ce même stade chez l'animal non déplaquettisé, les leucocytes chargés de microbes ont déjà disparu puisque leur nombre est déjà très faible au bout de la demi-heure qui a suivi l'injection. Le tableau le plus caractéristique nous est fourni par la rate : ici, les débris des plaquettes lysées se sont accumulés en nombre immense au point que, sur les coupes d'une demi-heure, on voit tous les sinus spléniques remplis d'une substance granuleuse amorphe provenant de l'agglomération de ces débris. A la périphérie de ces masses, et accolées à elles, se trouvent des plaquettes intactes formant autour de l'amas lysé une couronne d'éléments intacts probablement de formation nouvelle. De plus, de nombreux macrophages entourent d'une couronne continue les amas qu'ils sont en train de résorber : en effet, leur cytoplasma est bourré d'une substance granuleuse éosinophile provenant de l'incorporation de ces débris. Au sein des amas lysés, on ne voit aucune bactérie libre. Accolés à la paroi des sinus, dans l'espace compris entre cette paroi et l'amas de débris en voie de résorption, sont accumulés un très grand nombre de leucocytes polynucléaires bourrés de bactéries dont beaucoup ont subi la transformation éosinophile (fig. 12 et 13). Là aussi, la digestion intracellulaire des microbes se prolonge beaucoup plus tardivement que chez l'animal normal non déplaquettisé; elle est très loin d'être achevée au bout de 2 heures. De même, la résorption macrophagique des polynucléaires commence ici plus tard que dans le cas précédent. Comme on le voit, ce qui

semble distinguer l'animal normal de l'animal déplaquettisé, c'est chez ce dernier la lenteur relative des processus de résorption et de digestion intracellulaire.

Animaux immunisés.

Ce qui caractérise la réaction qui accompagne l'inoculation des bacilles dans le sang chez l'animal immunisé, c'est d'abord l'instantanéité de l'agglutination de ces derniers en dehors des plaquettes; c'est d'autre part, les dimensions colossales des agglomérations des plaquettes qui se font dans le plasma immédiatement après la pénétration de l'antigène dans le sang.

En effet, dans le sang de la jugulaire recueilli 5 secondes après l'injection des bacilles, on constate une agglutination massive de ces derniers en dehors de tout contact avec les plaquettes; d'autre part, les plaquettes se sont déjà agglomérées en amas énormes le plus souvent ne contenant pas de bacilles; dans d'autres cas, l'on observe la présence de quelques bacilles à l'intérieur de ces amas. Ces deux réactions, qui se produisent indépendamment l'une de l'autre, sont néanmoins immédiatement suivies d'un troisième phénomène qui consiste dans une prise de contact entre les amas de plaquettes à peu près vides de bacilles d'une part, et les amas de bactéries agglutinées de l'autre.

L'instantanéité de ces diverses réactions est telle que l'on ne peut s'empêcher d'évoquer le souvenir de l'agglutination de corps étrangers par les urnes des siponculides et de se demander si, également, dans le cas qui nous occupe, il ne s'agirait pas de phénomènes d'ordre électrostatique.

Au cours de ces premières réactions, l'on n'observe aucune intervention des phagocytes; l'agglutination des bactéries se fait avec une rapidité telle qu'il est hors de doute que l'emplaquettement n'a pas eu le temps matériel de s'effectuer, seules les rares bactéries échappées à l'agglutination massive ont été englobées dans l'intérieur des amas de plaquettes (fig. 7 et 14).

Si l'on étudie, au bout de 1 minute, le sang qui sort du poumon (carotide), on constate que le liquide sanguin est déjà à peu près complètement débarrassé de germes. Les amas de bacilles agglutinés ont disparu, étant retenus dans les capillaires pulmonaires; quant aux amas de plaquettes, un certain nombre ont déjà quitté les capillaires du poumon : on les retrouve en effet (en petit nombre, il est vrai) dans le sang de la carotide, mais dans un état d'altération très marquée. Ils se présentent en effet sous l'aspect

de masses fusionnées au sein desquelles a disparu complètement l'individualité des éléments, et contenant une sorte de poussière chromatique qui se colore d'ailleurs avec une grande intensité. A l'intérieur de ces masses lysées se voit quelques bacilles encore intacts. Quant aux leucocytes du sang, ils ont disparu à peu près complètement.

Si nous examinons un peu plus tard (2 minutes) le sang de la jugulaire, nous constatons que les grands amas de plaquettes se trouvent en abondance, mais avec des caractères nouveaux; ils sont de dimensions colossales, lysés au centre, bourrés de bactéries et entourés d'une couronne de leucocytes (polynucléaires et monocytes) qui y adhèrent et constituent à leur périphérie une sorte de plasmodium géant. Ces leucocytes contiennent eux-mêmes de nombreuses bactéries phagocytées.

Comme il s'agit ici de sang provenant de la circulation générale, il faut admettre que les amas de plaquettes retenus dans le poumon tout au début du processus, puis rentrés en partie dans la circulation générale presque aussitôt après (voir carotide après 1 minute), ont continué, en circulant à travers l'organisme, à drainer ce qui reste encore d'agglutinats microbiens libres, tout en adsorbant à leur périphérie les leucocytes rencontrés en route.

Si l'on continue à suivre ce processus dans le sang, on voit que, très rapidement, les amas de plaquettes encore présents dans la circulation générale sont transformés en blocs homogènes où l'on ne distingue plus ni individualité des éléments agglutinés, ni même trace de chromatine différenciée. A l'intérieur de ces amas, les bactéries ont subi la transformation granulaire (voir fig. 8). *On rencontre, au bout de 3 minutes,* les amas tels que nous venons de les décrire dans le sang de la jugulaire; on n'en trouve plus dans celui de la carotide après 3 minutes. On voit par là qu'à ce moment si proche du début du processus, le drainage du sang circulant est achevé et que la stabilisation des complexes plaquettes-bactéries-leucocytes s'est déjà faite dans les organes centraux (poumon, foie, rate), ainsi que va nous le montrer l'étude des coupes.

Etude des coupes du poumon

Si l'on étudie sur coupes la série des processus qui se passent à l'intérieur des petits vaisseaux pulmonaires, on voit que, dès les premiers moments qui suivent l'injection intraveineuse (5 secondes), il s'est produit à l'intérieur de ces vaisseaux une

accumulation énorme des éléments agglutinés dont nous avons pu saisir la formation dans le sang de la circulation générale (agglutinats de plaquettes et agglutinats de bacilles). Les capillaires périvasculaires sont distendus à la façon de véritables sacs bourrés de paquets agglomérés. Dès cet instant, amas de bactéries et amas de plaquettes sont déjà complètement envahis par les leucocytes polynucléaires bourrés de microbes ; l'accumulation des phagocytes à l'intérieur des vaisseaux du poumon est tellement grande qu'il n'est pas douteux que les amas de plaquettes et de bactéries formés dans le sang, lors de leur premier tour à travers la circulation générale, n'aient entraîné avec eux et en les adsorbant les leucocytes rencontrés en route (voir fig. 9 et 16). Il se forme de la sorte des complexus de plaquettes, de bactéries et de leucocytes au sein desquels la désintégration des bacilles s'opère avec la plus grande rapidité. Ainsi que nous l'avons constaté par l'examen du sang circulant, les amas de plaquettes, à mesure qu'ils subissent la lyse caractéristique, mais avant leur désintégration complète, sont petit à petit entraînés dans la circulation générale ; *si bien qu'au bout de 5 minutes* une bonne partie des amas emplaquettés ont déjà disparu du poumon. Au contraire, les phagocytes isolés ou en petits amas bourrés de microbes, en voie de digestion intracellulaire, persistent plus longtemps et n'abandonnent les vaisseaux du poumon qu'à un moment où les amas de plaquettes ont été déjà complètement évacués. *C'est ainsi qu'une demi-heure* après l'inoculation, les petits vaisseaux pulmonaires ne contiennent plus de plaquettes, tandis que les phagocytes libres se trouvent encore en très grande quantité. A ce moment, la plupart des bactéries phagocytées ont subi la transformation éosinophile. *Au bout de 2 heures,* les leucocytes présents sont bourrés de grains éosinophiles d'origine bactérienne. A partir de ce moment, ils quittent petit à petit le poumon qui, au bout de 6 heures, a repris son aspect normal.

Etude des coupes du foie

Le dépôt de complexus commence dans le foie un peu plus tard que dans le poumon. *Cependant, 1 minute* après l'inoculation, l'agglomération de ces complexes est déjà considérable dans les capillaires intralobulaires, et la réaction phagocytaire est très intense à l'intérieur des cellules de Kupffer. C'est ainsi qu'à l'intérieur des capillaires, on voit de longues traînées de plaquettes fusionnées formant des masses au sein desquelles a disparu

l'individualité des éléments. Les bactéries sont présentes en très grand nombre à l'intérieur des cellules de Kupffer, en même temps que des débris de plaquettes. Notons la rareté relative des leucocytes polynucléaires qui, à ce moment, semblent être encore retenus dans les capillaires pulmonaires.

5 minutes après l'inoculation, la réaction du foie est à son maximum, tant le système capillaire intralobulaire, aussi bien que les veinules des espaces de Kiernan sont encombrés d'amas de plaquettes dans lesquelles pénètrent des leucocytes appartenant surtout au groupe des monocytes. Les cellules de Kuppfer sont bourrées de bactéries en voie de digestion et de débris de plaquettes. Il faut noter la rapidité avec laquelle la transformation granulaire des bactéries se fait à l'intérieur des éléments du système réticulo-endothélial intralobulaire.

A partir de ce moment, la désintégration des amas de plaquettes fusionnées et lysées se fait avec une étonnante rapidité, grâce à l'activité phagocytaire des macrophages (macrophages libres dans les espaces de Kiernan, cellules de Kupffer dans les capillaires des lobules). *Au bout d'une demi-heure*, cette désintégration est presque achevée et l'on voit, dans les différents territoires du système capillaire, des amas de monocytes bourrés de débris. A ce moment, la digestion intracellulaire des bactéries est à peu près terminée (voir fig. 10).

Le processus intrahépatique se termine, entre la seconde et la sixième heure, par l'accumulation dans les capillaires de petites embolies constituées par des polynucléaires en pycnose ou en carriorhexie, et qui représentent sans doute les résidus de la réaction inflammatoire provenant des différents territoires de l'organisme et qui viennent — là ainsi que dans la rate — terminer leur existence. Elles ne tardent pas en effet à être englobées à l'intérieur des éléments du système réticulo-endothélial.

Etude des coupes de la rate

Le processus général observé dans la rate est très analogue à celui qui se passe dans le foie. Les amas de plaquettes commencent à s'accumuler dans les sinus spléniques déjà 5 secondes après l'inoculation : il s'agit là des premiers amas issus du poumon et rentrés dans la circulation générale.

Le dépôt intrasplénique des masses de plaquettes est au maximum déjà 1 minute après l'inoculation. Sur les coupes, ces amas constituent à l'intérieur des sinus de nappes continues.

A ce moment, on commence à voir d'assez nombreuses bactéries à l'intérieur soit des polynucléaires, soit des macrophages des sinus. Le maximum de cette réaction phagocytaire s'observe au bout de 5 minutes. Mais nous tenons à insister sur le fait qu'à aucun moment la destruction intraleucocytaire des bactéries n'atteint dans la rate l'intensité constatée dans le poumon et dans le foie.

Il ne faut jamais oublier, en effet, que le volume du sang qui traverse le foie (système artériel et système porte) est infiniment plus grand que celui qui traverse la rate dans le même temps. Si, au contraire, l'accumulation des amas de plaquettes dans la rate se fait avec l'abondance signalée plus haut, c'est sans doute en vertu de propriétés adhésives particulières qui retiennent ces amas au contact des parois des sinus sanguins.

A partir d'une demi-heure, le processus de digestion intracellulaire semble terminé. On ne voit plus de bactéries colorables par les colorants basiques, mais des grains éosinophiles qui remplissent les polynucléaires en dégénérescence et dont l'origine bactérienne ne semble pas douteuse.

Là aussi, de même que dans le foie, nous assistons vers la deuxième heure à une accumulation des polynucléaires en pycnose ou en carriorhexie que les macrophages ne tardent pas à englober. L'organe a repris son aspect normal vers la sixième heure.

V

Animaux immunisés et déplaquettisés.

Chez l'animal immunisé et préalablement soumis à une injection de sérum antiplaquette, les phénomènes d'agglutination des bactéries dans le plasma, l'englobement phagocytaire et la digestion intracellulaire ne diffèrent guère de ce que l'on observe chez l'animal immunisé et non déplaquettisé. Par contre, on ne voit ni dans le sang de la jugulaire aussitôt après l'inoculation des bactéries, ni dans celui de la carotide, ni dans les capillaires pulmonaires, ni dans ceux du foie, ces énormes amas de plaquettes observés chez l'animal non déplaquettisé. Ces éléments se présentent sous forme de petits groupes généralement lysés, mais à l'intérieur desquels se trouvent de nombreux granules provenant de la destruction extracellulaire des bactéries au contact de ces plaquettes lysées (voir fig. 15).

Ce n'est que dans la rate que, dès le début du processus réactionnel, les débris des plaquettes s'accumulent en masses énormes et ne tardent pas à y devenir la proie des phagocytes.

CONCLUSIONS

1. Chez l'animal normal, les plaquettes jouent un rôle considérable dans l'immobilisation et l'agglomération des bactéries introduites dans le sang. L'emplaquettement est pour ainsi dire instantané, et ce n'est qu'après le dépôt des masses emplaquettées dans les organes centraux que se produit la réaction phagocytaire.

Lorsque l'invasion bactérienne se fait par voie veineuse, le premier organe d'arrêt est le poumon. Cette première localisation est pour ainsi dire instantanée ; là, les complexes plaquettes-bactéries ne tardent pas à être envahis par les polynucléaires et le processus phagocytaire commence aussitôt. Bon nombre des masse de plaquettes ainsi formées subissent très vite une lyse de leurs éléments ; à l'intérieur de ces masses lysées, on constate une transformation granulaire des germes. L'action lytique des plaquettes vient ainsi s'ajouter à l'action destructive des phagocytes.

Au fur et à mesure que les complexes plaquettes-phagocytes-bactéries quittent les capillaires pulmonaires pour rentrer dans la circulation générale, ils sont déposés dans le foie (système capillaire des espaces de Kiernan et système capillaire intralobulaire), ainsi que dans les sinus de la rate. Là, ils ne tardent pas à devenir la proie des phagocytes mononucléaires (éléments du système réticulo-endothélial). Très peu de temps après la pénétration dans le sang des complexes ou des bactéries restés libres, les cellules de Kupffer sont bourrées de débris de plaquettes et de microbes phagocytés.

L'ensemble de ce processus dans les trois organes considérés ne dure que très peu de temps et est complètement terminé dans les 2 ou 3 heures qui suivent l'inoculation expérimentale. Notons la transformation rapide des bacilles typhiques en grains éosinophiles à l'intérieur des leucocytes polynucléaires.

2. Le pouvoir lytique des plaquettes est particulièrement mis en évidence dans les cas où l'inoculation expérimentale a été précédée par une injection intraveineuse de sérum antiplaquettes. Beaucoup de plaquettes, incomplètement détruites par l'action

du sérum spécifique, forment de petits conglomérats dont les éléments n'ont plus conservé l'individualité, mais au contact desquels les bactéries subissent intensément la transformation granulaire. Si bien que, même dans le cas d'une destruction massive de ces globulins, leur action antixénique continue à se faire sentir et à collaborer avec les phagocytes à l'élimination des germes contenus dans le sang. Ces plaquettes dégénérées s'accumulent en nombre immense dans les sinus de la rate pour lesquels elles semblent avoir une affinité plus grande que pour les capillaires hépatiques, — peut-être pour des raisons de viscosité ou de toute autre modification de leur état physique dont la nature nous échappe encore.

3. Chez les animaux immunisés dès les premiers instants qui suivent la pénétration des bacilles dans le sang, un double phénomène se produit : l'agglutination massive des bactéries et la formation d'énormes amas de plaquettes. Ces deux processus sont instantanés, simultanés et indépendants l'un de l'autre. Ces masses diverses sont aussitôt déposées dans les capillaires du poumon qu'ils distendent au maximum. En ce point, nous assistons à la formation de volumineux complexes plaquettes agglomérées-phagocytes, amas de bactéries agglutinées ; ces complexes ne tardent pas à quitter le poumon et à se déposer en grande quantité dans le foie et en quantité beaucoup moindre dans la rate. Dans le foie, les agglomérats de plaquettes ne tardent pas à subir la lyse totale qui s'accompagne d'une transformation granulaire très active de bactéries. En même temps, fragments de masses de globulins lysés, bactéries non transformées en granules, leucocytes polynucléaires entraînés avec les complexes sont englobés par les éléments du système réticulo-endothélial, à l'intérieur duquel ils ne tardent pas à être complètement résorbés.

Les leucocytes polynucléaires n'interviennent qu'à un faible titre à ce processus de destruction intrahépatique. En effet, dès le début du processus général, ils se sont amassés en quantité énorme dans les capillaires pulmonaires où ils achèvent, par voie de digestion intracellulaire, la destruction des amas bactériens agglutinés qui n'ont pas été entraînés dans la circulation générale avec les volumineux complexes décrits plus haut.

Tout ce processus de destruction est extrêmement rapide, présente son maximum d'intensité 5 minutes jusqu'à 10 minutes après la pénétration des bactéries dans le sang, et est complètement terminé environ 2 jusqu'à 6 heures plus tard.

Chez les animaux préalablement déplaquettisés, les débris des plaquettes se retrouvent par plages énormes dans l'intérieur des sinus de la rate (nous rappelons que cette destruction des plaquettes a commencé 1 heure avant l'introduction des bactéries).

4. L'ensemble de nos recherches nous amène à attribuer aux plaquettes du sang un rôle antixénique plus étendu que celui qui était admis jusqu'ici. Leur action n'est pas bornée au phénomène de l'emplaquettement. L'étude de ces éléments chez l'animal normal nous a déjà fait voir qu'en s'agglomérant les plaquettes présentent une certaine tendance à la lyse, et qu'au sein des amas lysés les bactéries subissent une notable transformation granulaire. Mais cette action lytique exercée par les plaquettes s'intensifie singulièrement chez l'animal immunisé. Nous avons montré, en effet, dans une série de notes antérieures, que les plaquettes sont des condensateurs d'anticorps qu'elles empruntent au milieu extérieur, retiennent à leur surface et abandonnent sitôt qu'une influence quelconque vient altérer leur structure primitive. Dès lors, il n'y a pas lieu de s'étonner qu'une abondante élimination d'anticorps (sensibilisatrice) se produit au sein des conglomérats des globulins qui subissent la lyse dans les organes des animaux immunisés. La conséquence immédiate de ce phénomène est la transformation granulaire des bactéries venues au contact de ces amas. Ces agglomérations constituent de la sorte des réservoirs d'anticorps qui abandonnent ces derniers précisément au niveau des foyers où se déroule le processus complexe de la réaction inflammatoire. Il y a là un complexe adaptatif qui rappelle très exactement celui qui se réalise au contact des urnes des siponculus immunisés contre un antigène bactérien.

BIBLIOGRAPHIE

Achard et Aynaud : « Sur le phénomène de la disparition des globulins. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXV, 1908, pp. 724-725.)

Aynaud (M.) : « Action du sérum antiglobulin *in vivo*. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1913, p. 193.)

Id. : « Action des microbes sur les globulins. » (*Ibid.*, LXX, 1913, pp. 54-55.)

Bull (C.) : « The agglutination of bacteria *in vivo*. » (*Journ. of exp. Med.*, XXII, 1915, pp. 484-491.)

Bull (C.) et Mac Kee (Clara) : « The relation of blood platelets to the *in vivo* agglutination of bacteria and their disappearance from the blood stream. » (*Amer. Journ. of Hyg.*, II, 1922, pp. 208-224.)

Cantacuzène (J.) : « Sur le rôle agglutinant des urines chez sipunculus nudus. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 259.)

Id. : « Réaction d'immunité chez sipunculus nudus vacciné contre une bactérie. » (*Ibid.*, LXXXVII, 1922, p. 264.)

Cantacuzène (J.) et Vlès (F.) : « Sur les facteurs électriques dans les réactions des éléments du sang chez sipunculus nudus. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 1455.)

Id. : « L'intervention de charge électrique dans la réaction des éléments du sang chez le siponcle. » (*Arch. de Physique biol.*, t. III, 1923, p. 5.)

Cantacuzène (J.). : Sur le sort ultérieur des urines chez sipunculus nudus au cours de l'infection et de l'immunisation. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXVII, 1922, p. 283.)

Id. : « Le problème de l'immunité chez les invertébrés. » (Communication à la célébration du 75e anniversaire de la fondation de la Société de Biologie, 1923.)

Id. : « Recherche sur les réactions d'immunité chez les invertébrés. Réactions d'immunité chez sipunculus nudus. » (*Arch. roum. de path. expér. et de microb.*, t. I, 1928, p. 7.)

Delcourt (Bernard) : « La fonction antixénique des plaquettes sanguines est-elle active ou passive? » (*Arch. int. de Physiol.*, XIX, 1922, pp. 298-308.)

Debrez et Govaerts : *L'intervention des globulins dans l'élimination des microbes.*

Delcourt (Bernard) : « Influence de faibles doses de peptones sur l'élimination des microbes introduits dans le sang circulant. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXV, 1921, pp. 738-740.)

Domagk (G). : « Untersuchungen über die Bedeutung des retikulo-endothelialen Sistems für die Vernichtung von Infectionserregen und für die Entstehung des amyloids. » (*Virchow's Arch. f. path. Anat.*, t. 253, 1924, p. 594.)

Dominici : « Sur un procédé de technique histologique appliqué à l'étude des cellules conjonctives. » (*Folia hemat.*, t. II, 1905, p. 219.)

Govaerts (P.) : « Le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité naturelle. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXII, 1919, pp. 927-929.)

Id. : « La fonction antixénique des plaquettes sanguines. » (*Arch. int. de Physiol.*, 1921, pp. 1-20.)

Id : « L'agglutination plasmatique, facteur d'instabilité des particules introduites dans la circulation. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXXV, 1921, pp. 244-245.)

Id. : « Influence des opsonines et de l'agglutination plasmatique sur l'accolement des microbes aux plaquettes sanguines. » (*Ibid.*, LXXXVI, 1922, pp. 976-979.)

Id. : « L'accolement des microbes aux plaquettes dans le sang d'animaux immunisés. » (*Ibid.*, LXXXVI, 1922, pp. 979-980.)

Le Fèvre de Arric : « Sur la spécificité et les propriétés de l'extrait de leucocytes dans le phénomène d'accolement des microbes. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, p. 968.)

Le Sourd et Pagniez : « Le sérum antiplaquettes. » (*Journ. de Physiol. et Path. gén.*, XIII, 1911, pp. 56-66.)

Id. : « Procédé de coloration des plaquettes sanguines dans les coupes d'organes. » (*C. R. Soc. Biol.*, LXXI, 1911, pp. 308-310.)

Oerskow : « Observations sur la propriété phagocytaire des endothéliums capillaires. » (*C. R. Soc. Biol.*, XCIII, 1925, pp. 959-963.)

Popesco (C.) : « Cercetări asupra stafilolysinei şi producţiei experimentale de antistafilolysină. » (*Teza Bucureşti*, tipografia Cultura, 1923.)

Id. : « Du pouvoir empêchant des plaquettes sanguines sur la staphylolysine. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XXXIX, 1923, pp. 259-261.)

Id. : « Sur les propriétés antimicrobiennes des plaquettes du sang. » (*Ibid.*, XCI, 1924, pp. 750-752.)

Id. : « Sur les propriétés hémolytiques des plaquettes du sang. » (*Ibid.*, t. XCII, 1925, pp. 1136-1137.)

Id. : « Action préventive exercée vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expé-

rimentale par les plaquettes de lapins immunisés contre le vibrion cholérique. » (*Ibid.*, XCV, 1926, pp. 420-421.)

Popesco-Combiesco (C.) : « Action préventive vis-à-vis de la péritonite vibrionienne expérimentale de l'extrait de plaquettes sanguines de lapins immunisés contre le vibrion cholérique. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. XCVII, 1927, p. 1001.)

Id. : « Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes. » (*Arch. roum. de Path. expér. et de Microb.*, t. I, 1928, pp. 453-484.)

Roskam (J.) : « La fonction antixénique des globulins. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 1921, pp. 269-271.)

Id. : « Fonction antixénique du plasma et des globulins. » (*Ibid.*, LXXXV, 1921, pp. 733-735.)

Id. : « Le rôle du plasma dans l'agglutinabilité des globulins. » (*Ibid.*, t. LXXXVI, 1922, pp. 733-735.)

Id. : « Quelques faits nouveaux concernant l'emplaquettement des particules étrangères. » (*Ibid.*, t. LXXXVII, 1922, pp. 377-378.)

Id. : « Contribution à l'étude de la physiologie normale et pathologique du globulin (plaquettes de Bizzorero). » (*Arch. int. de Physiol.*, XX, 1923, pp. 241-330.)

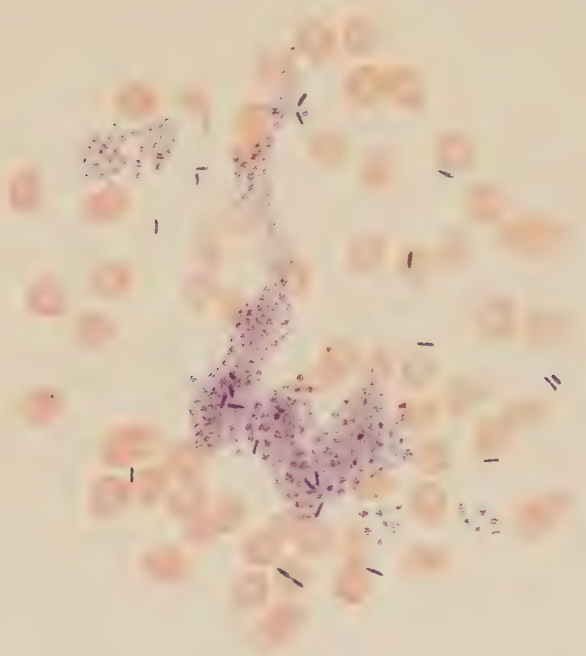


Fig. 1. — Sang de la jugulaire, 5 secondes après l'inoculation intraveineuse de bacilles chez le lapin normal. Amas de plaquettes fusionnés renfermant quelques bacilles.

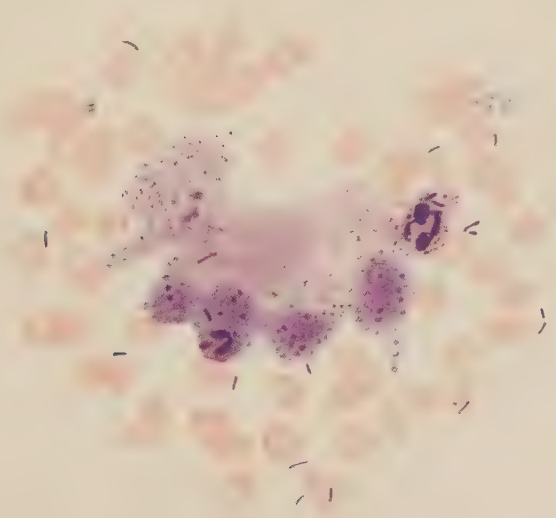


Fig. 2. — Même sang que dans la figure 1. Amas de plaquettes lysées au centre et contenant des bacilles transformés en granules.

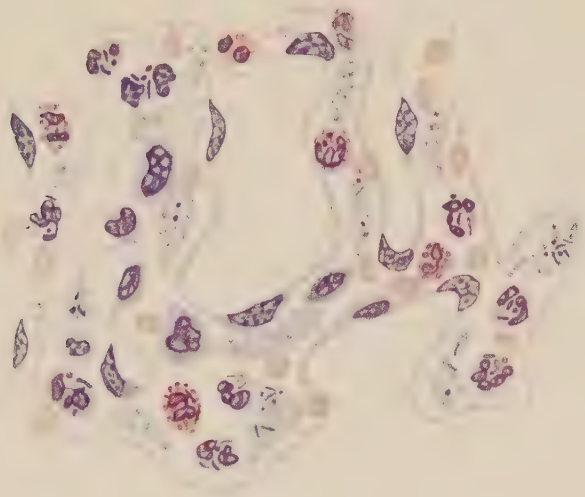


Fig. 3. — Coupe de poumon chez un lapin normal sacrifié une minute après l'inoculation intraveineuse.

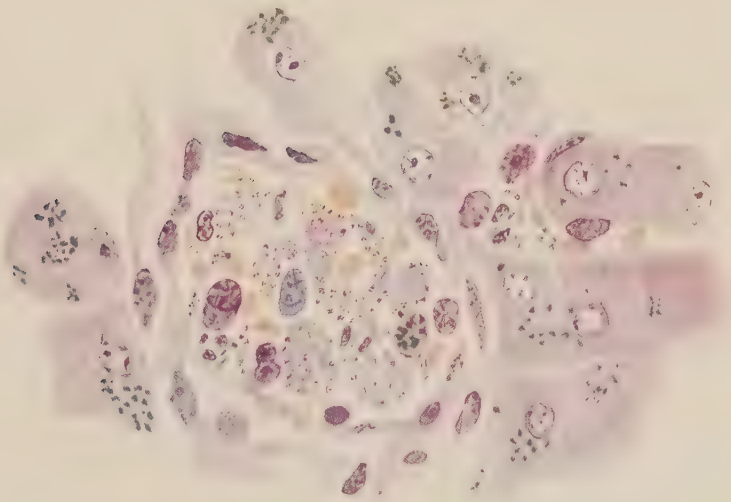


Fig. 4. — Coupe du foie chez un lapin normal sacrifié une minute après l'inoculation intraveineuse. Aspect d'une veine dans un espace de Kiernan.

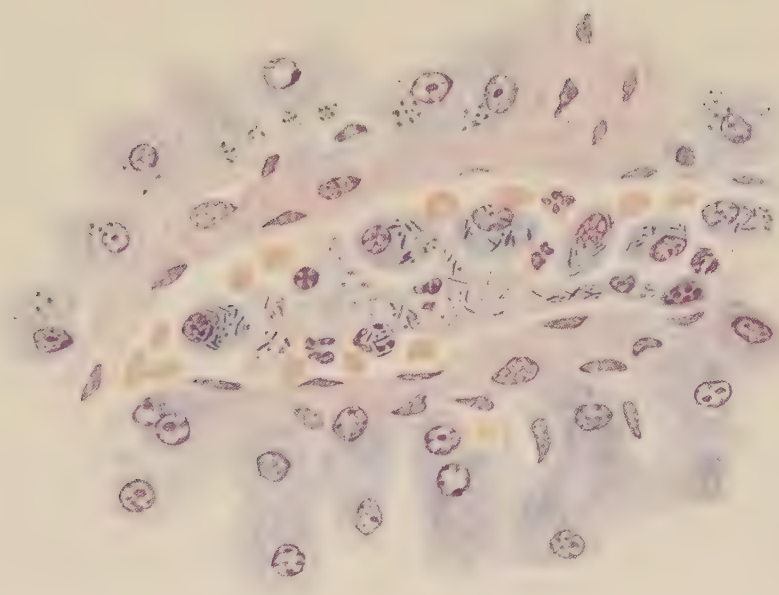


Fig. 5. — Coupe du foie chez un lapin normal sacrifié 30 minutes après l'inoculation intraveineuse. Réaction macrophagique dans une veine d'un espace de Kiernan.

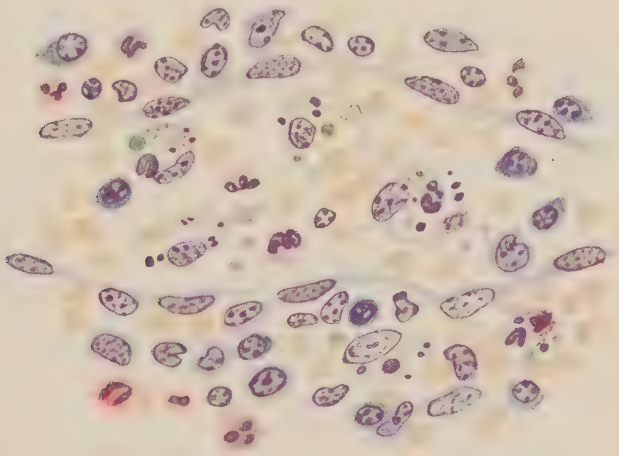


Fig. 6. — Coupe de rate chez un lapin normal sacrifié 30 minutes après l'inoculation intraveineuse. Réaction macrophagique.

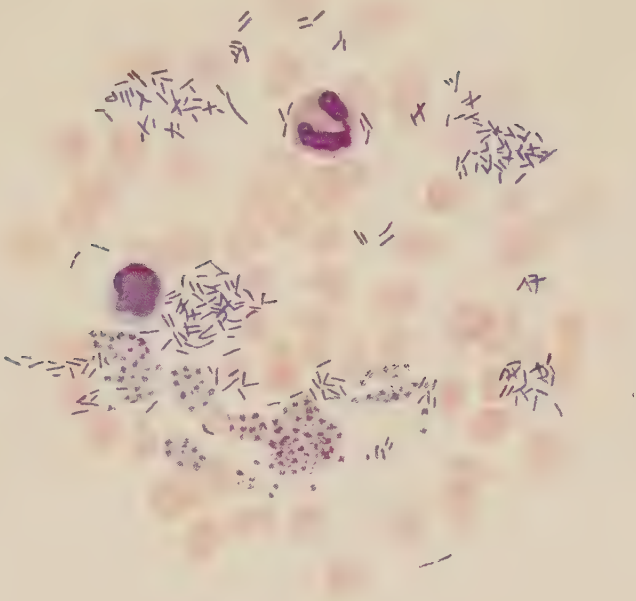


Fig. 7. — Sang de la jugulaire 5 secondes après l'inoculation intraveineuse de bacilles chez le lapin immunisé. Agglutination des microbes dans le plasma.

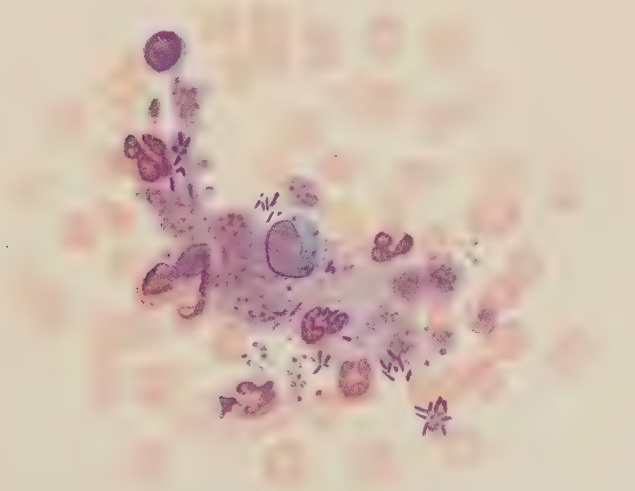


Fig. 8. — Sang de la jugulaire 2 minutes après l'inoculation intraveineuse de bacilles chez un lapin immunisé. Amas de plaquettes lysées.

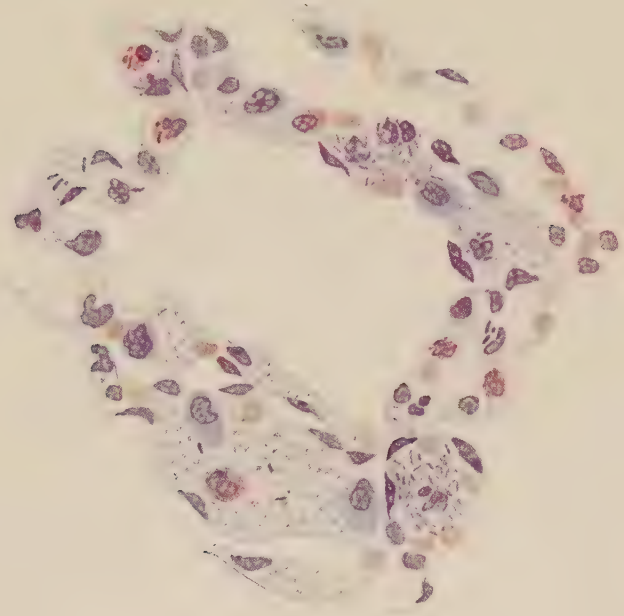


Fig. 9. — Coupe du poumon chez un lapin sacrifié 5 secondes après l'inoculation intraveineuse. Distension des capillaires par les amas de plaquettes.

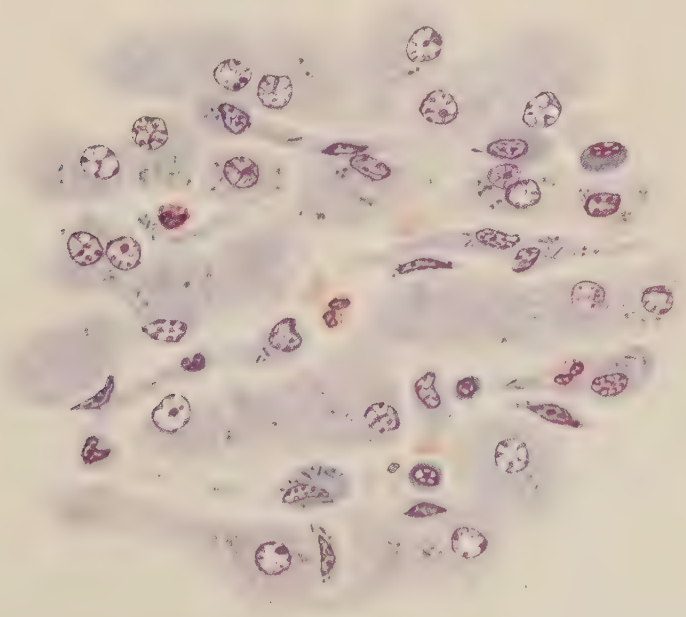


Fig. 10. — Coupe du foie chez un lapin immunisé, 30 minutes après l'inoculation. Réaction macrophagique dans les capillaires intralobulaires.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
Tome III. — N° 4. — 1930.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

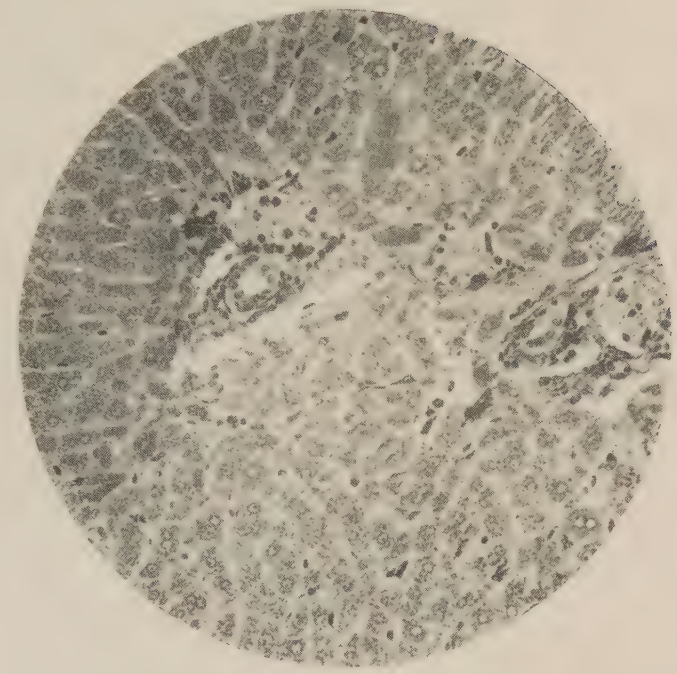


FIG. 11. — Coupe du foie chez un lapin normal sacrifié une minute après l'inoculation. Aspect des veinules dans un espace de Kiernan. (Microphotographie : obj. apochromat. Zeiss n° 20; oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

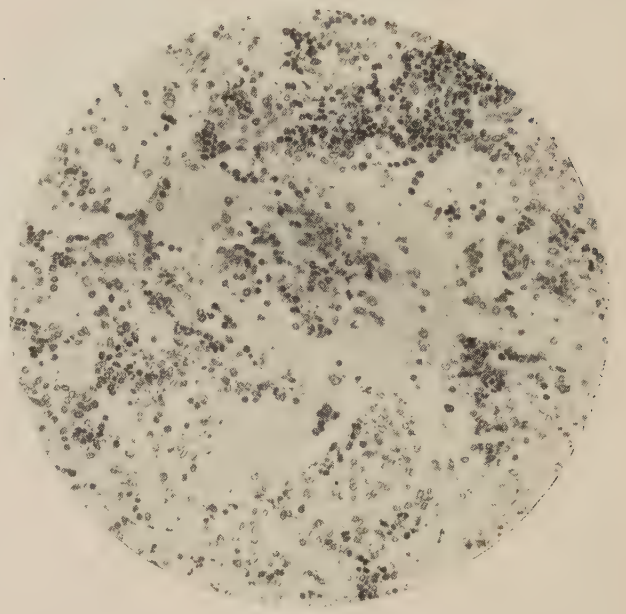


FIG. 12. — Coupe de la rate chez un lapin normal déplaquettisé, 30 minutes après l'inoculation. Amas de plaquettes lysées dans les sinus. (Microphotographie : obj. apochromat. Zeiss n° 20; oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

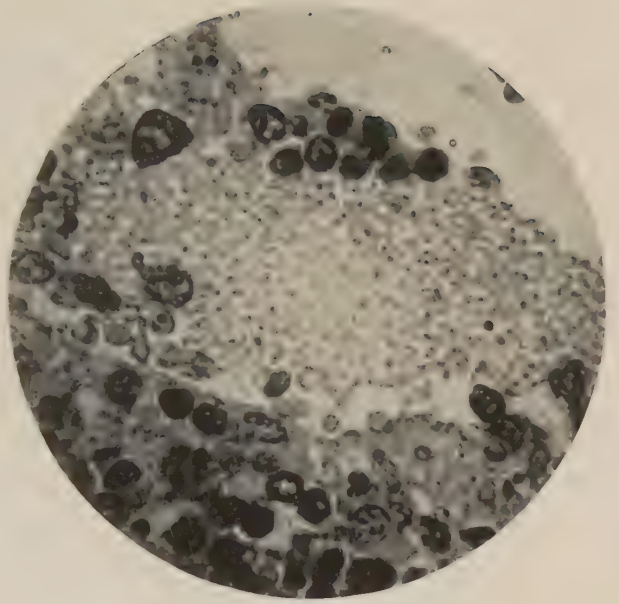


FIG. 13. — Coupe de la rate chez un lapin normal déplaquettisé. Aspect d'un sinus sanguin contenant un énorme amas de plaquettes lysées. (Microphotographie : imm. Zeiss 1 12, oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

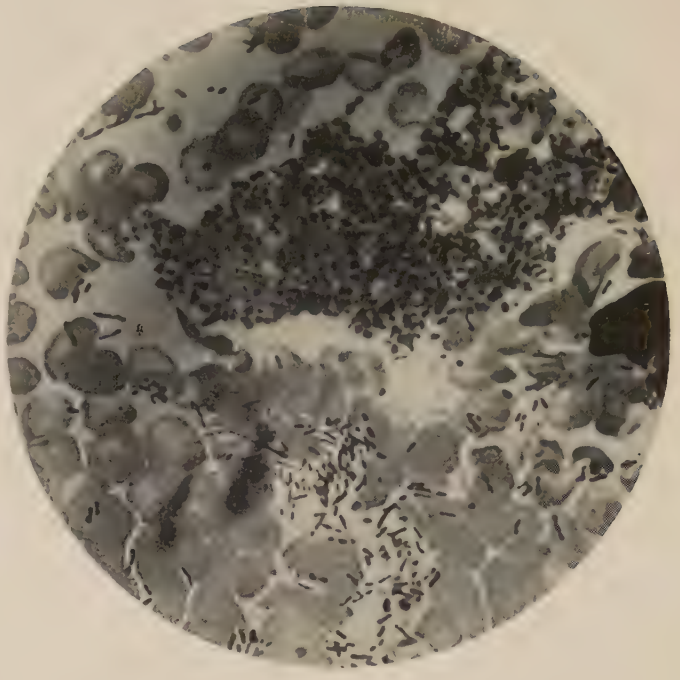


FIG. 14. — Sang de la jugulaire 5 secondes après l'inoculation intraveineuse chez le lapin immunisé. Agglutination dans le plasma des bacilles d'une part, des plaquettes de l'autre. (Microphotographie : imm. Zeiss 1/12 ; oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

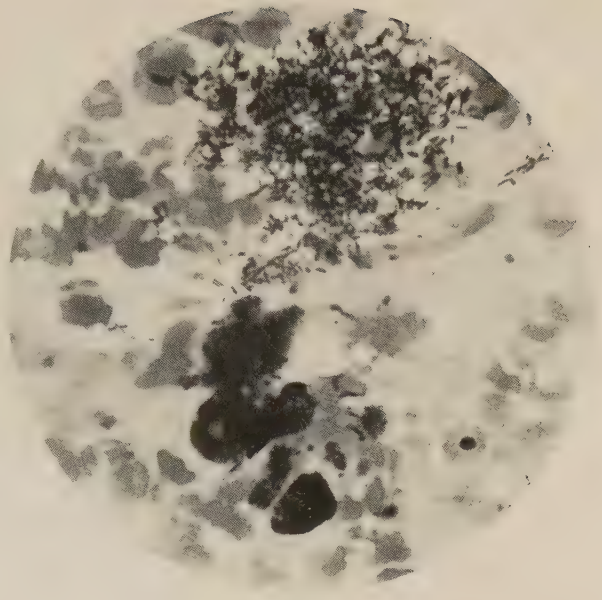


FIG. 15. — Sang de la jugulaire 5 secondes après l'inoculation chez le lapin immunisé, déplaquettisé. Amas de bacilles agglutinés; très peu d'amas de plaquettes. (Microphotographie : imm. Zeiss 1/12 ; oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

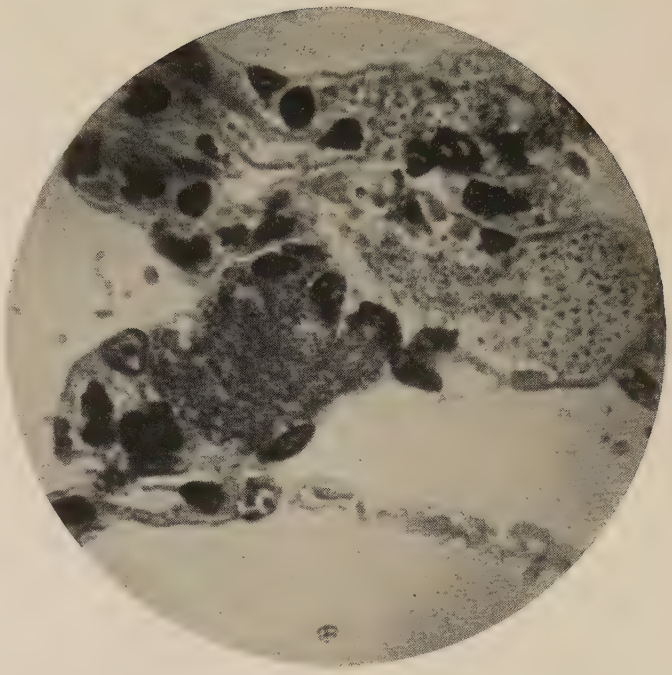


FIG. 16. — Coupe du poumon chez un lapin immunisé sacrifié 5 secondes après l'inoculation. A droite, capillaires distendus par les amas de plaquettes; à gauche, amas de bacilles agglutinés. (Microphotographie : obj. Zeiss imm. 1/12 ; oculaire photographique Zeiss « Phokou ».)

RECHERCHES SUR LES PROPRIÉTÉS ANTIGÉNIQUES DES RACES « SMOOTH » ET « ROUGH » DU BACILLE TÉTANIQUE

(Deuxième Mémoire)

par

Pierre CONDREA

Maître de Conférences à la Faculté de Médecine,
Chef de Laboratoire à l'Institut Docteur-J.-Cantacuzène.

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie Docteur-J.-Cantacuzène)

Dans un travail antérieur [1], nous avons exposé les résultats de nos recherches sur la coexistence de deux races de bacilles tétaniques, dans certaines cultures pures de ce microbe; d'après l'aspect de leurs colonies, en un milieu de culture favorisant ce mode de développement, nous avons dénommé ces races : *race D* (à colonie diffuse), *race L* (à colonie lenticulaire) et *race La* (à colonie lenticulaire avec ramifications).

Dans une note ultérieure [4] nous avons démontré que les bacilles tétaniques de race D (ciliés) présentaient les caractéristiques des races « Smooth », et les bacilles de race L (aciliés) les caractéristiques des races « Rough »; quant à ceux de la race La, ils présentent des caractères intermédiaires. L'étude de quatre-ving-seize souches différentes de bacilles tétaniques nous a permis d'affirmer que les bacilles tétaniques ciliés appartiennent à la variété « Smooth », et les bacilles aciliés aux variétés « Rough » ou intermédiaire.

Dans le présent travail, nous nous occupons des caractères antigéniques de ces variétés en limitant nos recherches à l'étude de leur agglutinogène, c'est-à-dire : 1° l'existence des antigènes O et H chez les variétés « Smooth » et « Rough »; 2° coexistence

de ces deux antigènes chez la même variété; 3° coexistence, dans une même souche microbienne, de la variété « Smooth » d'un type sérologique déterminé, et la variété « Rough » appartenant éventuellement au même type, ou à un type sérologique différent; 4° existence d'antigènes communs ou spéciaux dans ces variétés « Smooth » et « Rough », provenant d'un même type sérologique.

TECHNIQUE ET MÉTHODE

Nous avons préparé d'abord des sérums agglutinants spécifiques, à l'aide de bacilles tétaniques du type 1, 2, 3, 4, 5 et 6, mis à notre disposition par l'Institut Lister de Londres. Nous sommes heureux de pouvoir adresser nos remerciements à l'aimable directeur de cet Institut. Nous avons contrôlé la spécificité des sérums obtenus, et ensuite nous avons procédé à l'identification et à l'étude des propriétés antigéniques des diverses variétés isolées par nous.

Préparation de l'antigène. — On prépare des cultures abondantes de bacilles tétaniques en milieu liquide (bouillon glucosé à 1 %); avec une anaérobiose stricte, on obtient des cultures satisfaisantes après une incubation de quarante-huit heures à 37°. Les cultures sont centrifugées, le dépôt émulsionné dans de l'eau distillée est chauffé au bain-marie pendant deux heures à 60°; de cette manière la toxine, de même que les formes végétatives, sont détruites, les spores seules restent encore vivantes. L'émulsion standard est faite par rapport à une suspension obtenue par le mélange à parties égales de deux solutions n/100 de SO^4H^2 et $BaCl^2$.

Immunisation des animaux. — Pour la préparation des sérums, nous avons utilisé des lapins d'un poids d'environ deux kilogrammes. Avec l'émulsion standard, conservée à la glacière, nous faisions quatre injections endoveineuses de 1 centicube, 1 ctc. 5, 2 et 2 centicubes à quatre jours d'intervalle. Les animaux sont saignés à blanc dix jours après la dernière injection. De cette manière, on obtient des sérums agglutinants à un titre suffisamment élevé (1/400-1/1000). La mortalité parmi les animaux, à la suite de l'intoxication tétanique, est assez grande. Elle est due à la présence des spores tétaniques vivantes dans l'antigène utilisé; les symptômes de tétanos et la mort surviennent surtout après la seconde injection. On évite une trop grande perte d'animaux en portant l'intervalle entre la première et la seconde injection de

quatre à trente jours; c'est par cette dernière méthode que nous avons obtenu nos sérums les plus actifs (1/1000-1/1600); en vaccinant préalablement les animaux avec deux injections de 2 et 5 centicubes d'anatoxine tétanique du même type microbien, la mortalité est réduite à zéro.

Récolte du sérum et technique de l'agglutination. — Les sérums obtenus après coagulation sont filtrés à travers une bougie L_3, inactivés pendant trente minutes à 56° et répartis en fioles. Pour leur titrage, nous employons comme antigène des cultures de quarante-huit heures dans du bouillon glucosé à 1 %; avant l'emploi, les cultures sont filtrées sur un papier filtre très perméable pour nous débarrasser des grumeaux microbiens qui gêneraient l'examen. Le filtrat obtenu est une suspension très abondante et d'une parfaite homogénéité; les émulsions en eau distillée ou physiologique, obtenues après centrifugation et lavage des cultures, ont une grande tendance à l'agglutination spontanée et nous déconseillons leur emploi.

Le mélange bacilles-sérum agglutinant est fait dans des petits tubes à essai, à raison de 2 centicubes de culture et 0 ctc. 5 de dilution sérique. La lecture des résutats est faite après un séjour d'une heure à 56° au bain-marie. L'agglutination se fait beaucoup plus lentement, à l'étuve de 37°, et reste incomplète même après quatre heures de thermostat. Les résultats obtenus sont contrôlés à l'agglutinoscope.

RÉSULTATS

En utilisant cette technique, nous avons constaté les faits suivants : les bacilles appartenant à la variété « Smooth » (mobiles) sont agglutinés en gros flocons qui tombent immédiatement au fond du tube, agglutination caractéristique des antigènes ciliaires H. Les bacilles variété « Rough » sont agglutinés en fines granulations (antigène somatique O). Les contrôles antigéniques restent homogènes, sauf le type III qui, comme l'ont constaté Bauer [6] et Fildes [7], a une tendance à l'agglutination spontanée, mais cette pseudo-agglutination n'est que partielle. La suspension redevient homogène sitôt que nous agitons légèrement le tube, tandis que l'agglutination spécifique est irréductible. Nous résumons, dans le tableau I, les résultats de ces réactions :

TABLEAU I

ANTIGÈNE (culture de B. tétaniques)	SÉRUMS AGGLUTINANTS						
	Type I	Type II	Type III	Type IV	Type V	Type VI	Contrôle
Type I....	⊕1/600	0	0	0	0	0	0
Type II...	0	⊕1/1500	0	0	0	0	0
Type III...	0	0	⊕1/1000	0	0	0	0
Type IV...	0	0	0	⊕1/1000	0	0	0
Type V....	0	0	0	0	⊕1/400	0	0
Type VI... (immobile, acilié)	0	0	0	0	0	+1/1500	0

Le signe ⊕ indique l'agglutination totale à grands flocons.
Le signe + indique l'agglutination totale à petits flocons.

A l'examen de ce tableau, on voit que les sérums agglutinants préparés avec les antigènes de type I-VI sont strictement spécifiques; nous pouvons conclure, avec Tuloch [8], Bauer [6] et Coleman [9], qu'il n'y a pas d'agglutination croisée entre les antigènes tétaniques de type I-VI. L'agglutination croisée entre les types II et III, et entre les types IV et V, relatée par Fildes [7], doit être mise sur le compte de l'utilisation de cultures mixtes, dans lesquelles les deux types respectifs se trouvent mélangés. (Dans notre collection, nous possédons des cultures mixtes [type IV-V] envoyées et étiquetées comme telles par l'Institut Lister, et des cultures mixtes [type 1-6-X] provenant de l'Institut Pasteur de Paris, que nous avons purifiées et identifiées nous-mêmes.)

Avec les sérums ainsi préparés et contrôlés, nous avons procédé à l'identification et la classification sérologique d'une partie des germes isolés par nous. Nous avons utilisé les souches suivantes : T. 21 « Smooth », T. 21 « Rough », T. 82 « Smooth », T. 82 « Rough », T. 82 intermédiaire (La), T. 83 « Smooth », T. 83 « Rough », T. 84 « Smooth », T. 84 « Rough », T. 84 intermédiaire. Toutes les races « Smooth » sont mobiles et pourvues de cils, les races « Rough » immobiles et dépourvues de cils (1, 2, 3, 4). Nous résumons, dans le tableau II, le résultat de ces réactions :

TABLEAU II

ANTIGÈNE	SÉRUMS AGGLUTINANTS						
	Type I	Type II	Type III	Type IV	Type V	Type VI	Contrôle
T. 21 Sm ..	⊕1/400	0	0	0	0	0	0
T. 21 Rgh..	+1/600	0	0	0	0	0	0
T. 82 Sm ..	⊕1/1000	0	0	0	0	0	0
T. 82 Rgh..	+1/400	0	0	0	0	0	0
T. 82 Inter.	Agglutination spontanée						
T. 83 Sm ..	⊕1/600	0	0	0	0	0	0
T. 83 Rgh..	+1/200	0	0	0	0	0	0
T. 84 Sm ..	⊕1/600	0	0	0	0	0	0
T. 84 Rgh..	0	0	0	0	0	+1/400	0
T. 84 Inter.	Agglutination spontanée						

A l'examen de ce tableau, on constate que les souches T. 82 intermédiaire et T. 84 intermédiaire, les mêmes que nous avons cataloguées T. 82 La et T. 84 La, dans notre premier mémoire, présentent le phénomène de l'agglutination spontanée. Nous avons donc procédé à l'identification indirecte, en préparant, à l'aide de ces germes, des sérums agglutinants dont nous avons ensuite déterminé le pouvoir agglutinatif vis-à-vis de germes de type connu (1-6).

Nous résumons, dans le tableau III, le résultat de ces réactions :

TABLEAU III

SÉRUM AGGLUTINANT préparé avec	ANTIGÈNE (Bacilles tétaniques)					
	Type I	Type II	Type III	Type IV	Type V	Type VI (immobile)
T. 82 Intermédiaire .	0	0	0	0	0	+1/160
T. 84 Intermédiaire .	0	0	0	0	0	0
Contrôle sans sérum.	0	0	0	0	0	0

A l'analyse des tableaux II et III, on constate que, dans la majorité des souches isolées par nous, sont de type I : T. 21 « Smooth », T. 21 « Rough », T. 82 « Smooth », T. 82 « Rough », T. 83 « Smooth », T. 83 « Rough », T. 84 « Smooth » ; deux souches sont de type VI : T. 84 « Rough » et T. 82 intermédiaire, et

une souche, T. 84 intermédiaire, de type indéterminé (7, 8, 9, ou X). Dans les cultures où on trouve les races « Smooth » et « Rough » mélangées, ces races peuvent appartenir à un même type sérologique : T. 21 « Smooth » (t. I) + T. 21 « Rough » (t. I); à deux types différents : T. 82 « Smooth » (t. I) + T. 82 « Rough » (t. I) + T. 82 intermédiare (t. VI), ou à trois types : T. 84 « Smooth » (t. I) + T. 84 « Rough » (t. VI) + T. 84 intermédiaire (t. X) (autre que 1-6). Les races « Rough » sont agglutinées par les sérums préparés avec les races « Smooth » du type homologue; cette agglutination se fait à un taux inférieur, égal ou supérieur à celui de la race « Smooth » homologue.

Dans une autre série d'expérience, nous avons essayé de mettre en évidence la présence ou l'absence des antigènes O, H et R (Rough) chez les races « Smooth » et « Rough » du bacille tétanique. Dans ce but, en dehors des sérums agglutinants utilisés dans les expériences précédentes, nous avons préparé des sérums avec des cultures de race « Smooth » chauffées pendant une heure à 100° (pour détruire l'antigène H), et avec des cultures de race « Rough » chauffées et non chauffées, du même type sérologique.

Nous avons procédé ensuite à l'agglutination croisée, avant et après la saturation des agglutinines. Pour obtenir la saturation des agglutinines, nous avons traité 2 centicubes de sérum avec le dépôt de centrifugation de 50 centicubes de culture de quarante-huit heures; après un séjour de quatre heures à 37° et de vingt-quatre heures à la glacière, on sépare par centrifugation le sérum qui agglutine encore faiblement l'antigène utilisé. En général, deux traitements pareils sont nécessaires pour épuiser complètement les agglutinines homologues. Les tableaux IV et V résument les résultats de ces expériences :

TABLEAU IV

SÉRUM AGGLUTINANT préparé avec bacilles	ANTIGÈNE			
	a Bacilles Type I Sm.	*b* Bacilles Type I Rgh.	*c* Bacilles Type I Sm. ch. 60′ à 100°	*d* Bacilles Type I Rgh. ch. 60′ à 100°
1) Type 1 Sm	⊕1/1000	+1/800	agglutination spontanée	agglutination spontanée
2) Type 1 Sm ch. 60′ à 100°	+1/800	+1/800	»	»
3) Type 1 Rgh.	+1/600	+1/600	»	»
4) Type 1 Rgh. ch. 60′ à 100°	+1/700	+1/700	»	»
5) Type 1 Sm saturé avec bacilles type 1 Sm.	0	0	»	»
6) Type 1 Sm saturé avec bac. type 1 Sm. ch. à 100°	⊕1/1000	0	»	»
7) Type 1 Sm saturé avec bac. type 1 Rgh.	⊕1/1000	0	»	»
8) Type 1 Sm ch. 60′ à 100° saturé avec type 1 Rgh.	0	0	»	»
9) Type 1 Rgh. saturé avec bac. type 1 Sm. ch. à 100°	0	0	»	»
10) Type 1 Rgh. saturé avec bac. type 1 Rgh. ch. à 100°	0	0	»	»
11) Contrôle. 2,5 cc. culture	0	0	»	»

Le signe ⊕ indique l'agglutination totale à grands flocons, caractéristique pour l'antigène ciliaire (H).

Le signe + indique l'agglutination totale à petits grains, caractéristique pour l'antigène somatique (O).

TABLEAU V

SÉRUM AGGLUTINANT	ANTIGÈNE	
	Bacilles type VI Rgh.	Bacilles type VI Inter.
Type VI Rgh.	+1/1500	Agglutination spontanée
Type VI Inter.	+1/800	»
Type VI Rgh. saturé avec bacilles type VI Inter.	0	»
Type VI Inter. saturé avec bacilles type VI Rgh.	0	»
Contrôle	0	»

A l'analyse de ces tableaux, on constate les faits suivants : le sérum préparé avec les bacilles type I « Smooth » agglutine l'antigène homologue en grands flocons, et l'antigène type I « Rough » en petits grains, à un titre à peu près égal (1a et 1b).

Le sérum préparé avec l'antigène type I « Smooth », chauffé préalablement pendant une heure à 100°, agglutine en petits granulés les antigènes type I « Smooth » et type I « Rough » (2a et 2b).

Le sérum préparé avec l'antigène type I « Smooth », et saturé soit avec l'antigène type I « Smooth » chauffé soixante minutes à 100°, soit avec l'antigène type I « Rough », agglutine l'antigène type I « Smooth » en gros flocons au même titre que le même sérum saturé, et n'agglutine plus l'antigène type I « Rough » (6a, 7a et 6b, 7b).

Le sérum préparé avec l'antigène type I « Smooth » chauffé une heure à 100°, saturé soit avec l'antigène type I « Smooth » chauffé une heure à 100°, soit avec l'antigène type I « Rough » chauffé ou non, n'agglutine plus les antigènes type I « Smooth » et type I « Rough ».

Il résulte de ces faits que la race type I « Smooth » est composée de deux antigènes : un antigène thermolabile qui est détruit par un chauffage de soixante minutes à 100° (l'antigène ciliaire H), et un antigène termostabile (l'antigène somatique O) qui résiste au chauffage. L'inoculation aux animaux de l'antigène type I « Smooth » provoque l'apparition des deux anticorps agglutinants respectifs : agglutinine O et agglutinine H; l'agglutinine H est complètement indépendante de l'agglutinine O; l'absorption de l'agglutinine O, par l'antigène chauffé une heure à 100°, n'a aucune influence sur l'agglutinine H et ne diminue en rien le titre agglutinant du sérum pour l'antigène H.

L'antigène du type I « Rough » est agglutiné par le sérum type I « Smooth », mais n'est pas agglutiné par le même sérum saturé avec l'antigène O de la race type I « Smooth ».

Il résulte donc, de la totalité de ces faits, que tous les composants de l'antigène type I « Rough » se trouvent dans l'antigène somatique O, du type I « Smooth ». L'antigène H, du type I « Smooth », ne se trouve pas dans le type I « Rough ».

La présence des deux antigènes O et H dans les races mobiles du bacille tétanique, et de l'antigène O pur dans les races immobiles, a été déjà constatée par Félix et Robertson [10].

En ce qui concerne le type I « Rough », on constate que les sérums agglutinants préparés avec cet antigène soit frais, soit

chauffé une heure à 100°, présentent les mêmes caractéristiques; ils provoquent une agglutination en petits granulés des antigènes type I « Smooth » et type I « Rough » (3a et 3b, 4a et 4b). La saturation des agglutinines est complète, si on traite ces mêmes sérums soit avec l'antigène type I « Smooth » chauffé soixante minutes à 100°, soit avec l'antigène type I « Rough » frais ou chauffé (9a et 9b, 10a et 10b). Il résulte donc que le type I « Rough » possède l'antigène O pur et ne possède pas d'antigène H. L'antigène O, de la race type I « Rough », est identique à l'antigène O de la race type I « Smooth ».

En comparant les races type VI « Rough » et type VI intermédiaire (tableau V), on constate que ces deux races sont agglutinées aussi bien par le sérum homologue que par le sérum hétérologue; la saturation des agglutinines de ces deux sérums est aussi complète par l'antigène homologue ou hétérologue; ces antigènes sont par conséquent identiques.

Par la méthode de l'agglutination et de la saturation des agglutinines, nous n'avons pas décelé la présence d'un antigène spécial R chez les races « Rough » ou intermédiaires du bacille tétanique.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. Les types sérologiques 1-6 du bacille tétanique sont strictement spécifiques. L'agglutination croisée, constatée par certains auteurs, est due à l'emploi des cultures mixtes.

2. Les races « Smooth » du bacille tétanique sont constituées par deux antigènes : l'antigène ciliaire H (thermolabile) et l'antigène somatique O (thermostabile). Les races « Rough » sont constituées par l'antigène O pur.

3. L'antigène O des races « Smooth » est identique à l'antigène O des races « Rough » du même type sérologique.

4. Les races « Rough » et intermédiaires, du même type sérologique, sont identiques au point de vue antigénique.

5. Les races « Rough » et intermédiaires (La) ne possèdent pas un antigène spécial R différent de l'antigène somatique O des races « Smooth » et « Rough ».

BIBLIOGRAPHIE

1. Condrea (P.) : « Recherches sur la morphologie du bacille du tétanos. » (*Arch. roum. de Path. expér.*, t. II, n° 1, p. 39. Masson, éditeur, 1929.)
2. Id. : « Sur la coexistence de deux formes de bacilles tétaniques dans certaines cultures pures de ce microbe. » (*C. R. Soc. Biol.*, t. 99, 1928, p. 1376.)
3. Id. : « Sur les caractères microscopiques et pathogéniques des bacilles tétaniques. » (*Ibid.*, t. 99, 1928, p. 1379.)
4. Id : « Nouveau procédé de culture pour la mise en évidence et l'isolement des races « Smooth » et « Rough » chez les microbes anaérobies facultatifs. » (*Ibid.*, t. 103, 1930, p. 629.)
5. Id : « Existence de races « Smooth » et « Rough » chez les microbes strictement anaérobies. » (*Ibid.*, t. 103, 1930, p. 631.)
6. Bauer : *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, t. 21, 1924, p. 265.
7. Fildes (P.) : « Tetanus II. Aglutination and toxicity of B. Tetani. » (*Brith. Journ. Exper. Path.*, t. 6, 1925, p. 91.)
8. Tuloch : « Report of bacteriological investigations of tetanus, etc. » (*Journ. Hyg.*, t. 18, 1919, p. 103.)
9. Coleman (G.-E.) et Gunnison (J.-B.) : « Serologic types of Clostridium Tetani. » (*Journ. Infect. Dis.*, t. 48, 1928. p. 185.)
10. Felix (A.) et Robertson (M.) : « Serological studies in the group of the sporebearing anaerobes. I. The qualitative analysis of the bacterial antigens of B. Œdematis maligni (Vibrion septique) and B. Tetani. » (*Brith. Journ. Exp. Path.*, t. 9, 1928, p. 6.)

CONTRIBUTIONS EXPÉRIMENTALES AU PROBLÈME DE LA GRANULIE

par

M. NASTA et M. BLECHMANN

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie de Bucarest)

Si, au point de vue étiologique, la découverte du bacille de Koch a définitivement tranché la question de l'unicité d'origine et de nature des différentes lésions tuberculeuses, rendant ainsi une éclatante justice à la géniale intuition de Laënnec, il n'en a pas été de même pour ce qui est de la pathogénie et de l'histogénèse de certaines déterminations de ce bacille dans l'organisme.

Aussi, cent ans après la mort de Laënnec, la question de la pathogénie et de l'histogénèse des lésions particulières à la granulie est-elle encore à l'ordre du jour et l'objet d'un nombre considérable de travaux cliniques, anatomo-pathologiques et expérimentaux.

Après les nombreuses discussions et controverses qui avaient mis aux prises cliniciens et anatomistes, en France aussi bien qu'en Allemagne, concernant la signification et les rapports respectifs des deux types de lésions les plus caractéristiques de la tuberculose, la lésion nodulaire et la lésion caséeuse, un accord semblait s'être établi pour reconnaître, tout en admettant leur étiologie commune, en marge, ou plutôt en opposition à la tuberculose commune ulcéro-caséeuse, l'existence d'une entité clinique et anatomique bien définie, la « granulie » déterminée par l'irruption des bacilles dans la circulation, leur généralisation par voie sanguine et leur localisation dans les différents viscères, le poumon étant surtout le plus intensément atteint. Le caractère particulier des lésions ainsi déterminées était les granulations péri- et juxta-vasculaires, interstitielles, n'intéressant pas les alvéoles pulmonaires. La structure de ces granulations était celle du folli-

cule tuberculeux typique giganto-cellulaire, celle que Virchow avait attribué à la néoplasie grise, constituant le tubercule cellulaire ou follicule tuberculeux élémentaire.

Quant à l'aspect clinique, c'était celui que lui avait fixé Empis en traçant les caractères de la maladie qu'il avait désignée « granulie », et si le vocable subit ultérieurement une chance variable, remplacé qu'il fut tantôt par le nom de « phtisie granuleuse aiguë », tantôt par celui de « tuberculisation aiguë », il n'en est pas moins vrai que, toute discussion étiologique mise à part, il continuait de représenter un cadre nosologique, à substratum anatomique et aspect clinique bien déterminés.

Une première atteinte à cette unité fut portée en 1922, lors d'une observation de MM. Bezançon et Braun [1] qui constatèrent, à l'autopsie de malades ayant succombé à la forme suffocante de la granulie, que les lésions n'avaient pas les caractères de la granulation miliaire décrite par Laënnec, n'étant pas constituées par des nodules exactement arrondis ni de siège interstitiel, mais au contraire de siège lobulaire et manifestement alvéolaires.

L'étude histologique approfondie de ces lésions a conduit Letulle et Bezançon [2] à une revision des notions courantes sur la structure des granulations miliaires, que le premier de ces auteurs a définitivement exposée dans son rapport au centenaire de la Société anatomique de Paris, en 1926, auquel nous empruntons la description qui suit.

Pour Letulle [3], il y a lieu de distinguer deux types de lésions que Laënnec avait bien différenciées l'une de l'autre, savoir : la *granulation miliaire de Bayle* et le *tubercule miliaire*; la première, de l'avis même du maître, « une variété rare de tubercules »; la seconde, de beaucoup « la forme la plus commune des lésions tuberculeuses du poumon ». Si, au point de vue macroscopique, les successeurs n'eurent qu'à confirmer ses dires, tout au plus en y ajoutant quelques détails, comme l'existence des granulations sub-miliaires et le groupement en « corymbes » des tubercules miliaires, l'étude microscopique devait, de l'avis de Letulle, confirmer plus encore et d'une manière saisissante les vues de Laënnec.

Sur les coupes les plus favorables, on peut assister au début de la formation d'un seul ou de quelques « *follicules primitifs* » dans l'épaisseur d'une cloison interacineuse, par exemple, au sein d'une atmosphère péribronchique; ailleurs, aux dépens de la membrane adventice d'une veine pulmonaire ou la capsule d'un

ganglion lymphatique, ou dans le tissu réticulé lui-même. Pour tous ces cas, nulle hésitation; il sagit d'un minimum nodule folliculaire giganto-cellulaire, né dans l'intimité du squelette conjonctivo-vasculaire, conformément à l'idée doctrinale de Virchow; la gangue interstitielle du poumon a été la matrice.

En règle habituelle, la granulation tuberculeuse paucifolliculaire, et ponctuée de quelques cellules géantes bacillifères, est rapidement envahie par la nécrobiose caséifiante.

La granulation miliaire est en somme un nodule tuberculeux plurifolliculaire et giganto-cellulaire qui se développe dans le tissu conjonctivo-vasculaire du poumon, c'est une lésion de la trame; au contact des appareils alvéolaires, elle en épaissit les parois et en mutile les armatures élastiques.

Pendant son expansion centrifuge, la granulation tuberculeuse éveille fréquemment, dans les cavités aériennes adjacentes, une réaction inflammatoire d'un autre genre, exsudative et d'allure pneumonique, « la bronchio-alvéolite bacillaire », qui souvent la transforme en une variété du « tubercule miliaire » de Laënnec; elle peut alors devenir la source d'embolies caséeuses aériennes secondaires, génératrice de nodules bronchio-pneumoniques.

Quant aux tubercules miliaires dont Laënnec avait bien décrit les caractères macroscopiques : petits amas opaques, irréguliers, saillants à la surface de la coupe, de couleur blanc jaunâtre et souvent groupés par séries de trois à cinq en forme de fleurs, « en corymbes », les coupes microscopiques montrent bien aussi une structure bien différente de celle des granulations miliaires.

Les nodules sont centrés d'ordinaire par une bronchiole (acineuse ou intralobulaire) qu'obstrue presque toujours un petit amas de matière caséeuse, au sein de laquelle les cellules géantes font en règle défaut. Autour du conduit, dont l'armature élastique est déjà plus ou moins corrodée par l'infiltration caséogène, les alvéoles satellites sont, jusqu'à une certaine distance, comblés par des produits inflammatoires en désintégration nécrobiotique, noyaux pycnotiques, cellules vitrifiées, matière fibrinoïde ou granulo-graisseuse, toutes les altérations classiques d'un îlot tuberculeux sont ici réunies et tassées en amas souvent compacts; il s'agit d'une bronchio-alvéolite dont la nature spécifique est facile à démontrer par la coloration des bacilles de Koch répartis souvent en grande abondance parmi les masses inflammatoires.

En somme, chacun de ces îlots représente un nodule bronchio-pneumonique péri-bronchique dont le processus histopathogé-

nique paraît être, dans la plupart des cas, celui-ci : un fragment minime de matière caséeuse projetée (par une embolie aérienne) s'est arrêtée (à la façon d'un caillot dans une artère terminale) en un point où le calibre du vaisseau aérien ne pouvait plus lui donner passage. Même s'il s'agit d'un apport de bacilles par le sang dans la paroi bronchique, au contact des bacilles importés, les éléments cellulaires (épithéliums vasculaires, macrophages et leucocytes hyperdiapédétiques), la sérosité inflammatoire, la fibrine exsudée et bientôt la paroi canaliculaire elle-même subissent la désintégration caséogène; tout meurt, en formant un bouchon obturateur compact, plus ou moins adhérent. Puis, progressant en dehors du conduit, les bacilles se répandent dans les alvéoles péribronchiques, ils y éveillent une alvéolite aiguë.

Il faut signaler que l'hyperémie, les proliférations épithéliales, l'afflux de macrophages, l'hyperdiapédèse et les exsudats inflammatoires diversement combinés à l'intérieur des alvéoles et dans l'épaisseur des parois, sont voués en dernière analyse à la nécrobiose caséifiante et même à la fonte cavitaire.

Dans ces conditions, la gangue interstitielle de la région envahie n'a d'ordinaire ni le temps ni les moyens de produire des tubercules folliculaires giganto-cellulaires.

En résumé, le tubercule miliaire du poumon est un îlot de bronchio-alvéolite bacillaire non folliculaire, c'est en un mot un minime foyer de bronchio-pneumonie spécifique; il est le plus souvent voué à la caséification, son pire destin est le ramollissement suppuratif des parties nécrobiotiques et l'évacuation des produits pathogènes le long des voies aériennes.

Cette conception, d'une opposition si catégorique, quant à l'histogénèse et la pathogénie de ces deux types de lésions, n'a pas été sans rencontrer d'assez vives objections de la part de certains auteurs, notamment de MM. Rist, Rolland, Jacob et Hautefeuille [4]. Se basant sur l'étude clinique et anatomique des cas de granulie, sur lesquels ont plus spécialement porté leurs recherches, ces auteurs se demandent s'il est légitime d'opposer si catégoriquement le tubercule miliaire « primum movens » de la tuberculose chronique du poumon, d'une part, et les granulations tuberculeuses conjonctivo-vasculaires, d'autre part, et si l'étude des faits autorise cette distinction caractérisant « une sorte de néodualisme », dont ils attribuent à MM. Letulle et Bezançon la paternité.

Ils font d'abord remarquer le fait que presque toujours les images, auxquelles Letulle conserve le nom de tuberculose

miliaire, voisinent avec les images les plus typiques de granulations tuberculeuses, et ceci non seulement au point de vue macroscopique, mais plus encore quant à l'étude histologique. Ainsi, quoiqu'il n'y eut pas à nier, selon ces auteurs, que les lésions considérées comme typiques de la granulie, par Letulle et Bezançon, soient aisément reconnaissables sur un poumon granulique, et qu'elles y présentent tous les caractères histologiques assignés par eux, il n'en est pas moins vrai que c'est précisément dans des formes de granulie froide que Rist et ses collaborateurs ont trouvé, à côté de ces granulations tuberculeuses typiques, des tubercules miliaires nettement bronchio-alvéolaires, plus ou moins volumineux, caséifiés, quelquefois en voie d'excavation, souvent encerclés de tissu fibreux, ce dernier présentant des formations folliculaires giganto-cellulaires voisinant avec les granulations tuberculeuses les plus valables.

Cette coexistence, d'ailleurs, avait été reconnue par Letulle et Bezançon, et les auteurs ne prétendent pas nier que l'existence des lésions granuliques, à l'exclusion de toute association broncho-pneumonique, soit une impossibilité, mais elle leur paraît assez rare.

A ce point de vue, ils insistent sur le fait que leur existence seule, ou associée aux lésions alvéolaires, serait encore plus rare si on complétait par l'étude histologique tout examen anatomique. En effet, ainsi que le prouve une de leurs observations, sur un poumon dont la coupe macroscopique montrait des lésions absolument nettes de « granulie », l'examen histologique fit voir que ces lésions miliaires étaient des lésions exclusivement alvéolaires, pneumoniques; qu'elles étaient constituées par des foyers de pneumonie nodulaire, à différents stades de caséification, mais sans aucune formation giganto-cellulaire; enfin que les bronchioles respiratoires acineuses et sus-lobulaires étaient strictement intactes, qu'il s'agissait donc bien d'alvéolite nodulaire caséeuse simple et non de bronchio-alvéolite, et que l'intégrité des bronches rendait plus que probable la propagation par voie sanguine des lésions. Cette propagation sanguine pouvait être formellement affirmée quand on considérait les viscères et séreuses, littéralement farcis de tubercules. Ces derniers, dans certains organes, foie, rate, séreuses, avaient la structure schématique des tubercules classiques folliculaires giganto-cellulaires. Dans le rein, au contraire, ils étaient constitués uniquement par des îlots de nécrose caséeuse, sans aucune néoplasie fibro-conjonctive spécifique.

Cette observation confirme entièrement le point de vue des auteurs, à savoir que : des granulations à lésions exclusivement alvéolaires peuvent exister, et que ce siège alvéolaire des lésions n'implique nullement une voie d'apport des bacilles autre que celle sanguine, cette origine étant complètement démontrée dans leur observation, par l'intégrité de l'appareil bronchique d'une part, par la généralisation des lésions dans tous les organes, d'une autre.

Quant au siège des lésions typiques folliculaires, ils ne croient nullement que leur caractère folliculaire implique une localisation interstitielle. La granulation folliculaire peut, ainsi que le prouvent les préparations expérimentales de Borrel [5], se développer dans un capillaire, ou dans la lumière même de l'alvéole. L'existence des granulations alvéolaires, d'ailleurs, avait, il y a déjà longtemps, été signalée par Hérard, Cornil et Hanot [6] (1888). D'autre part, l'étude des lésions expérimentales obtenues par injection massive intraveineuse de bacilles ciliés, montre, d'après Coulaud, des granulations alvéolaires typiques. Enfin les auteurs se demandent si, bien souvent, les granulations tuberculeuses, étant donné leur aspect fibro-caséeux, à tendance nettement cicatricielle, ne représentent pas une lésion alvéolaire primitive, n'intéressant qu'un ou deux alvéoles ultérieurement remaniés par une sclérose périlésionnelle en arrivant à masquer la nature de la lésion pneumonique originelle.

Sans pour cela nier complètement l'existence des granulations interstitielles pariéto-alvéolaires et les granulations alvéolaires primitivement folliculaires constructives, les auteurs pensent que ces lésions sont si fréquemment intriquées avec les lésions nodulaires du type broncho-pneumonique, qu'elles sont si rarement seules en cause que réellement leur existence ne semble pas mériter une place à part dans la classification des tuberculoses miliaires. Enfin, il ne faut pas oublier qu'en réalité, même dans les formes les plus nettement folliculaires, il existe toujours, au voisinage de la formation folliculaire, des réactions alvéolaires également d'origine tuberculeuse et qui sont bacillifères; que, d'autre part, même si l'on admettait comme possible l'origine purement conjonctive de la granulation, la trame conjonctive du poumon n'est pas suffisamment développée pour que cette formation puisse rester bien longtemps séparée des cavités aériennes. Rapidement, la granulation la plus typique s'ouvrira en un point de son pourtour dans une cavité aérienne, où elle évacuera les parties en voie de désagrégation de son centre.

Et, en matière de conclusion : « Nous n'hésitons donc pas à dire et à répéter que, sur le terrain macroscopique, Laënnec, comme toujours, avait raison : il n'y a pas de granulie vraie ou fausse; il n'y a que des tuberculoses miliaires dont les éléments sont des granulations ou des tubercules. Les barrières qu'on a voulu établir entre la granulation tuberculeuse miliaire sont artificielles. Il y a ordinairement fusion intime entre les deux types de lésions; il existe, d'une part, des granulations alvéolaires purement pneumoniques, sans follicules et, d'autre part, des granulations alvéolaires fibro-conjonctives et folliculaires. Enfin, les granulations interstitielles les plus typiques ne sont peut-être parfois que des lésions alvéolaires remaniées. La prétendue granulie ne reconnaît donc aucune individualité topographique histologique, sa pathogénie est la même que celle des lésions alvéolaires auxquelles on veut l'opposer. Au point de vue clinique, le concept est tout aussi discutable : il ne répond pas non plus à une affection toujours mortelle, puisqu'il y a des granulies curables. Nous concluons que le concept de granulie ne mérite pas la fortune qu'il a si injustement conservée; il y a non pas des granulies, mais des tuberculoses à lésions diffuses, finement nodulaires, qui par essence ne diffèrent nullement des autres lésions tuberculeuses en général. Le mot de granulie, qui semblait caractériser une maladie spéciale, n'a pas sa place dans une classification nosologique rationnelle. »

Sans aller aussi loin et jusqu'à nier toute raison d'être à la granulie comme entité clinique, les récentes recherches de Delarue [7], d'une riche documentation clinique, anatomique et expérimentale, apportent un important appui à la conception d'une histogénèse et pathogénie unitaire de la grande majorité des lésions tuberculeuses miliaires.

Cet auteur distingue, — et dans ce qui suit nous nous en tiendrons de très près au texte même de son travail, la précision et les détails de ses descriptions faisant que, pour les discussions suivantes et nos propres expositions, elles nous serviront de repères, — à l'examen des coupes de granulies, deux formes bien différentes de nodules; certains d'entre eux sont nettement arrondis, on remarque en eux une organisation cellulaire, un groupement histologique dont l'ensemble réalise parfois le follicule tuberculeux; la réaction tissulaire, à l'égard des bacilles est ici une réaction de construction « productive », dirait-on en Allemagne.

Dans d'autres, au contraire, l'organisation folliculaire n'existe

pas; le nodule est constitué par un petit nombre d'alvéoles remplis d'éléments cellulaires plus ou moins altérés et de fibrine. C'est là un nodule folliculaire « pneumonique » ou, comme l'appelle Aschoff, « exsudatif ».

Voyons quels sont les caractères de ces deux types de nodules. Pour ce qui est du nodule pneumonique ou interstitiel, il s'agit généralement d'un petit groupe d'alvéoles juxtaposés situés au fond d'un acinus et comblés par des éléments cellulaires. Ce sont avant tout des cellules volumineuses, arrondies ou ovalaires, peu chromophiles, pourvues d'un noyau habituellement central, clair, ou très foncé au contraire, suivant les degrés d'altération de la cellule. Ces volumineux éléments cellulaires sont en nombre variable dans la cavité alvéolaire, on en trouve parfois seulement une dizaine; beaucoup plus souvent, ils sont si abondants qu'ils se chevauchent l'un l'autre et que la cavité aérienne en est littéralement bourrée. On peut, par le seul examen histologique, préciser parfois leur provenance, en voyant certains d'entre eux se détacher de la paroi alvéolaire.

Cette lésion, dite « d'alvéolite desquamative ou catarrhale macrophagique », est la lésion initiale, élémentaire, fondamentale de tout processus pathologique, tuberculeux ou non, développé dans le poumon. Avec les grosses cellules rondes se voient rarement, dans le cas du nodule tuberculeux, quelques leucocytes polynucléaires, et surtout de la fibrine disposée en larges fibres concentriques contre la paroi de l'alvéole. Les cloisons alvéolaires sont aisément reconnaissables à leur coloration plus intense et à leur capillaires.

Réduit ainsi à quelques alvéoles seulement, situés en plein tissu sain, le contour polyclique ou vaguement polyédrique formé par la paroi même des alvéoles atteints, nous avons devant nous un nodule élémentaire, le tubercule submiliaire de Letulle.

Le plus souvent, cependant, la structure est beaucoup plus complexe, l'action des toxines du bacille de Koch est évidente : le nodule est caséifié, contenant une masse caséeuse centrale, plus ou moins large par rapport au diamètre total du foyer miliaire. Autour de la masse caséeuse centrale se retrouvent les lésions alvéolaires; on constate une transition progressive entre l'alvéolite à grosses cellules et la caséification; il existe une région intermédiaire dans laquelle le contenu alvéolaire a subi la caséification, alors que les parois des cavités aériennes sont encore à peu près intactes, un peu amincies cependant. Elles subissent bientôt à leur tour la nécrose caséeuse; il n'est plus possible d'en deviner

la place que grâce à la longue persistance de leurs fibres élastiques et de la disposition de la fibrine.

Quant à ce qui est de la topographie de ce tubercule miliaire, Delarue le considère comme le plus souvent situé loin de toute bronche, quoique dans certains cas il puisse intéresser une bronchiole acineuse ou même une bronche intralobulaire. Ces rapports avec les bronchioles, cependant, sont loin d'être constants et apparaissent nettement secondaires, de sorte que la lésion ne mérite pas le nom « d'îlot de bronchio-alvéolite » que lui avait donné Letulle, mais plutôt de « pneumonie caséeuse miliaire » que lui donnent Huebschmann et Arnold [8].

Enfin, à la périphérie de la zone de mortification, il existe des réactions que l'on pourrait interpréter comme un début d'organisation et une tendance à l'enkystement, telles que les éléments cellulaires allongés disposés parfois en bandes parallèles, décrits par Huebschmann et Arnold, ainsi que la présence des fibres collagènes que l'on voit à la périphérie et plus souvent même à la périphérie des lésions.

A l'inverse du nodule exsudatif caséifié, lequel est la traduction d'un processus dégénératif de nécrose progressive expansive, le nodule folliculaire réalise avant tout un processus de réaction tissulaire dont le groupement histologique, s'il n'est pas absolument particulier à la tuberculose, offre du moins des caractères très nets de spécificité; il est formé par un « agglomérat » de follicules (Letule et Bezançon) dont les éléments constitutifs si différents, à première vue, des éléments normaux, paraissaient à Virchow des éléments néoformés.

Ce nodule folliculaire peut se rencontrer sous trois aspects : caséeux, non caséeux et fibreux.

Le premier présente de prime abord un contour généralement beaucoup plus net que celui du nodule exsudatif. Il est centré par une masse caséeuse caractérisée par sa lobulation bien mise en évidence par les colorations électives des fibres collagènes. La zone de cellules épithélioïdes qui entoure la masse caséeuse est elle-même dissociée et lobulée, ce qui permet de reconnaître ses parties constituantes, c'est-à-dire les follicules tuberculeux disposés à la périphérie de la masse caséeuse comme les pétales autour d'une fleur. Chacun de ces follicules peut présenter une ou plusieurs cellules géantes de Langhans. Le nodule est entouré d'une ceinture réactionnelle inflammatoire dont les fibres collagènes et les fibroblastes forment la trame. Des lymphocytes et des plasmocytes s'y associent souvent en si grand nombre qu'ils peu-

vent complètement masquer les fibres collagènes et les fibroblastes. Les lymphocytes s'infiltrent d'ailleurs souvent entre les follicules épithélio-giganto-cellulaires, les séparant les uns des autres. Le parenchyme environnant est généralement sain, mais en y regardant de plus près on s'aperçoit que quelques-uns des alvéoles sont atteints d'alvéolite macrophagique, mais sans aucune tendance à la caséification. Les parois de ces alvéoles sont souvent abondamment infiltrés de lymphocytes, ce qui les épaissit considérablement et donne à l'ensemble du nodule un aspect anguleux.

Les nodules sont parfois développés au voisinage immédiat d'une bronchiole, mais ils siègent le plus souvent autour d'une artériole ou d'une veinule avec une systématisation saisissante dans certains cas.

Il arrive cependant souvent qu'il n'existe pas, au centre de ces formations, la moindre caséification. L'ensemble du nodule, ordinairement très petit, est tout entier occupé par une organisation cellulaire, par un ou deux follicules élémentaires juxtaposés par un réseau épithélioïde unique, au milieu duquel les colorations électives mettent en évidence quelques fibrilles collagènes entourant un ou deux plasmodes multinucléés. C'est en somme le follicule primordial considéré très généralement encore comme la lésion tuberculeuse la plus jeune.

Ces nodules folliculaires non caséeux microscopiques sont parfois absolument isolés dans une fraction de parenchyme pulmonaire tout à fait sain. Parfois aussi, ils sont conglomérés en petits groupes sans pour cela confluer; ils sont alors souvent noyés dans une atmosphère lympho-conjonctive commune densifiée, cependant, autour de chacun d'eux, de telle sorte qu'ils peuvent être facilement identifiés.

Quel est exactement le siège de ces nodules folliculaires, caséeux ou non ? Tout le monde est d'accord au sujet du nodule exsudatif; il est, aux yeux de tous, l'expression même de l'alvéolite tuberculeuse; mais le fait de savoir si le nodule folliculaire est interstitiel ou alvéolaire est fort discuté. L'école allemande admet que le nodule « productif » peut être aussi bien intraacineux qu'interstitiel, tandis que Letulle, tout en considérant comme possible la transformation d'un îlot d'alvéolite en nodule folliculaire, après arrêt dans sa marche extensive, est d'avis que les deux formations doivent être séparées; que le nodule plurifolliculaire est toujours « interstitiel », développé au sein d'une cloison interacineuse ou interalvéolaire. Malgré tout ce qu'une

pareille conception a de vraisemblable à première vue, à l'examen des lésions folliculaires, il n'en est pas moins vrai qu'en réalité le nodule folliculaire est sans doute aussi une lésion alvéolaire. La preuve formelle en vient souvent sous forme de fibres élastiques, isolées ou en petits faisceaux, qui persistent au sein de la masse caséeuse centrale. Leur orientation signe la participation alvéolaire; quand les fibres élastiques ont disparu, c'est la mise en évidence du tissu collagène et de la fibrine qui permet de reconnaître formellement le siège alvéolaire. Souvent même, quand le réseau épithélioïde subit une certaine rétraction, on aperçoit très nettement la cloison interalvéolaire pourvue de collagène et infiltrée de lymphocytes. Tout aussi évident serait, selon Delarue, le siège alvéolaire des follicules isolés non caséeux.

Il n'est pas moins vrai, cependant, qu'il puisse exister dans le poumon des nodules interstitiels; ceux-ci sont alors généralement situés dans l'adventice conjonctive des bronches et des vaisseaux, les uns à centre caséeux, d'autres représentés seulement par un réseau épithélioïde avec plasmodes multinucléés.

Enfin, il n'y a pas lieu d'admettre une autre topographie que celle alvéolaire pour une troisième catégorie de nodules, les nodules fibreux qui se distinguent des précédents par un développement excessif du collagène qui encercle complètement le nodule.

Quant à la voie d'apport des bacilles dans la tuberculose miliaire, et quel que fût le caractère des lésions, tout semble plaider pour Delarue en faveur de la voie sanguine, ses recherches expérimentales lui ayant montré que les bacilles amenés par cette voie au poumon finissent toujours par pénétrer dans l'alvéole et y déterminent, aussi bien que lorsqu'ils y arrivent par voie aérienne, un processus d'alvéolite. De la sorte, comme on voit, la dernière barrière entre les deux mécanismes pathogéniques tombe elle aussi, les deux types de lésions, tubercule miliaire et granulation, ayant un même siège : l'alvéole, une même voie d'apport des bacilles : le torrent sanguin.

Avant de penser de répondre à la question qui inévitablement s'impose, pourquoi dans certains cas tel type et pourquoi dans d'autres tel autre type de lésion prédomine, et avant d'exposer les différentes hypothèses émises par les auteurs précédents, nous pensons devoir dire quelques mots d'une tentative à notre avis originale et qui projette une vive lumière sur tout le problème de l'histogénèse de la tuberculose : nous voulons parler de la

manière de Huebschmann d'envisager la tuberculose dans le cadre général de l'inflammation.

De l'avis de Huebschmann [9], toute la confusion dans nos conceptions sur l'histogénèse de la tuberculose vient de ce que l'on a trop longtemps considéré la granulation folliculaire épithélioïde comme la lésion primitive, spécifique, en quelque sorte de la tuberculose; aussi son but est-il de ramener le processus tuberculeux aux mécanismes communs à toute inflammation. Le point de départ de toute réaction inflammatoire serait, pour Huebschmann, l'altération des tissus déterminée par l'agent pathogène. A celle-ci, l'organisme répondrait d'abord par une première suite de phénomènes : hyperémie, œdème, sécrétion de fibrine, hémorragies et surtout dyapédèse des leucocytes polynucléaires d'abord, macrophages originaires du système réticulo-endothélial ensuite. Tous ces éléments peuvent à leur tour tomber la proie de la nécrose du fait de l'action destructive de l'agent pathogène primitif.

Cet ensemble de phénomènes caractérise la période *exsudative*.

Fait important, et quelle que fût la nature de l'infection, l'abondance de l'exsudat dépend, en dehors d'autres facteurs virulence, etc., et toutes conditions égales, du lieu de l'inflammation. Ainsi l'on voit que là où celle-ci rencontre des surfaces libres, il se produit parfois des masses importantes d'exsudat liquide ou coagulable, ce qui est par exemple le cas des séreuses ou du poumon, au cours de la pneumonie; tandis que dans les organes à tissu compact, le même agent pathogène ne détermine que des exsudats réduits, ou bien qui n'arrivent à de plus grandes proportions que lorsqu'il se produit des cavités à la suite de la fonte tissulaire (abcès, flegmons).

A la période exsudative, fait suite la période productive, caractérisée par l'apparition, la néoformation d'un tissu spécial, vasculaire, réticulé, le tissu de granulation et cicatriciel. Les zones exsudatives sont petit à petit envahies et enfin remplacées par un réseau de capillaires et fibroblastes. Avec l'apparition du tissu de granulation, l'aspect cellulaire aussi change d'aspect. La modification la plus importante consiste dans ce que les polynucléaires sont remplacés progressivement par des éléments de la série lymphatique, principalement par des lymphocytes et des plasmocytes; les marcophages persistent plus longtemps. Finalement, la zone inflammatoire est remplacée par un tissu vascularisé, dans lequel prédominent les fibroblastes et qui contient, en plus, des amas plus ou moins grands de lymphocytes et plasmocytes. En

même temps apparaît un réseau de fibrilles collagènes de plus en plus épais et, finalement, de fibres conjonctives hyalines. Enfin, les vaisseaux sanguins disparaissent et il ne reste plus qu'un tissu conjonctif dépourvu de fibres élastiques : la cicatrice.

Au cours des inflammations ordinaires, il n'y a pas de production de cellules géantes. Celles-ci apparaissent seulement lorsqu'il s'agit d'éléments irrésorbables ou difficilement résorbables.

Il s'en faut cependant que la cicatrice soit l'aboutissant fatal de toute inflammation; celle-ci, dans certaines circonstances, peut se terminer par la résolution complète de la *restitutio ad integrum* (exemple de la pneumonie).

Quel est l'équivalent de ces différentes étapes de l'inflammation dans la tuberculose ? Pour ce qui est de la lésion cellulaire primitive, elle peut, quoique rarement, être mise en évidence dans les stades tout à fait incipients de l'infection bacillaire, et cela surtout dans les organes à parenchyme plein, épithélial, comme le foie, au cours de certaines granulies généralisées ou dans la granulie localisée du foie consécutive à une tuberculose intestinale.

La réaction exsudative est plus spécialement évidente dans le poumon, où elle est généralement précédée et accompagnée d'hyperémie. C'est notamment au cours de la tuberculose miliaire qu'on trouve de pareils foyers répandus dans tout le poumon et surtout dans le voisinage immédiat des lésions miliaires. D'ailleurs on peut, selon Huebschmann, facilement se convaincre, dans les cas récents de tuberculose miliaire généralisée, que presque toujours les lésions sont au début, indiscutablement, des foyers pneumoniques. On rencontre les mêmes éléments dans les affections tuberculeuses des séreuses, qu'il s'agisse de péricarde, plèvre ou méninges. Dans les lésions tout à fait récentes, on voit l'inflammation débuter par les mêmes dépôts de fibrine, comme dans toute autre inflammation, et les réactions cellulaires du début représentées par le même afflux de polynucléaires.

Quand il s'agit d'organes à parenchyme compact, évidemment, cette phase de la réaction inflammatoire est moins manifeste. Elle y est probablement plus courte comme durée et moins intense, et le passage à la période de réaction productive est plus rapide. Cependant, à un examen attentif, on peut facilement se convaincre qu'ici aussi le foyer d'altération cellulaire primitive est bientôt entouré d'une zone d'exsudation surtout marquée à la périphérie, et représentée par une infiltration de polynucléaires soit en travées isolées, soit en vrais amas, ainsi que de l'œdème et des dépôts de fibrines,

Cette différence de réaction, selon la structure de l'organe, ne serait pas, selon Huebschmann, particuilère à la tuberculose, mais se rencontrerait aussi dans d'autres infections comme, par exemple, dans celle due au pneumocoque qui peut provoquer une pneumonie franche, type de la lésion exsudative dans le poumon, et ne déterminer dans le rein qu'une glomérulo-néphrite, lésion dans laquelle le caractère exsudatif est presque inexistant.

Quant au processus productif, il est caractérisé, pour la tuberculose, par la présence de la cellule épithélioïde ayant son origine dans l'endothélium vasculaire. A celle-ci vient bientôt se joindre un réticulum collagène qui subit la transformation hyaline. Quelle que fût l'origine de ce réticulum, sa formation est d'autant plus rapide que l'organe lésé offre à cette néoformation un support fibrillaire réticulé préexistant, ce qui explique aussi, en bonne partie, la différence d'aspect des lésions selon l'organe intéressé. C'est le développement de ce réticulum fibreux qui bientôt, étouffant tous les éléments cellulaires, transforme la lésion, en la rétrécissant, en un nodule fibreux dans lequel parfois quelques cellules géantes trahissent encore la nature du processus pathologique.

Enfin, une formation caractéristique de cette phase, c'est, pour la tuberculose, la cellule géante, résultat, selon Huebschmann, de la multiplication amytotique des noyaux d'une cellule épithélioïde, sous l'influence soit des bacilles eux-mêmes, soit de leurs produits toxiques.

Quelle est, dans la succession de tous ces phénomènes, la place de la caséification, autre aspect caractéristique de la lésion tuberculeuse ? Il est de notion courante d'admettre que le follicule tuberculeux à lui seul, ou bien l'agglomération de plusieurs de ses pareils, subit à son centre la caséification, manière particulière de nécrose due à l'anémie locale d'une part, à l'action toxique du bacille d'une autre.

Pour Huebschmann, la caséification n'est et ne peut pas être le processus de nécrose du follicule une fois constitué, car à son avis elle est seulement une modalité de la réaction exsudative dont les éléments subissent la dégénérescence caséeuse; une fois le follicule constitué, et l'atteinte toxique des bacilles surmontée, il ne peut plus se produire de caséification.

Si pour ce qui est de la pneumonie ou alvéolite caséeuse, il est évident que la caséification qui a lieu à l'intérieur de l'alvéole n'a pas été précédée par une formation folliculaire, les images de follicules à centre caséeux sont dues à la formation secondaire de

follicules autour d'un foyer caséeux, et non à la caséification du centre de ces follicules même. Lors même qu'un pareil processus aurait lieu, il ne pourrait être dû qu'à une poussée secondaire inflammatoire dont les éléments de réaction exsudative subiraient la caséification; souvent aussi ce sont, au contraire, les cellules épithélioïdes qui envahissent la masse caséeuse aboutissant à la transformation fibreuse de la lésion.

Pour le cas spécial de la granulie, Huebschmänn distingue, au point de vue macroscopique, deux types de lésions : les unes, que l'on rencontre surtout dans des poumons généralement hyperémiés, œdémateux et présentant en certains points des plages nettes de foyers pneumoniques, sont caractérisées par leurs contours irréguliers, imprécis et leur coloration gris jaunâtre; les autres, que l'on rencontre plus fréquemment dans des poumons aérés, moins hyperémiés, sont de coloration grise, à contours ronds, réguliers, bien délimités.

Ces lésions ne se rencontrent pas fréquemment à l'état pur ; surtout à l'examen microscopique, on se rend compte de leur coexistence. Pour le premier type, il s'agit d'un processus alvéolaire de pneumonie caséeuse; au milieu de la masse caséeuse, on reconnaît la structure élastique des parois alvéolaires; à la périphérie, on voit quelques rangées de leucocytes, de cellules épithélioïdes et d'endothélium alvéolaires, parfois aussi de lymphocytes.

Dans la seconde catégorie, le type extrême est représenté par l'image du tubercule classique; un nodule formé de cellules épithélioïdes, cellules géantes et couronne de lymphocytes. Dans ce cas, il serait peut-être malaisé de préciser le siège de la lésion, n'étaient les tubercules de même structure, mais à centre caséeux. Pour ceux-ci le doute n'est plus possible; les fibres élastiques que l'on peut mettre en évidence, au milieu de la masse caséeuse, indiquent nettement le siège intraalvéolaire de la lésion, ce qui permet, à défaut d'autre preuve, d'attribuer la même topographie aux tubercules folliculaires non caséeux, d'autant plus qu'aucun fait précis ne vient à l'appui de l'opinion encore assez répandue que ceux-ci seraient de siège interstitiel.

Enfin, un troisième aspect de lésions, qui macroscopiquement n'ont aucune ressemblance avec la granulie, permet de suivre toutes les phases du processus : ce sont les alvéolites d'aspect banal, exsudat de fibrine et infiltration leucocytaire, dont seule la présence de bacilles permet d'affirmer la nature tuberculeuse et qui peuvent être considérés comme représentant l'étape qui précède la fonte caséeuse (splénisation de Letulle).

Somme toute, on peut résumer l'évolution miliaire de la manière suivante : dans des alvéoles ou groupes d'alvéoles, il se produit un processus de pneumonie fibrineuse, qui bientôt aboutit à la caséification; secondairement, autour de ce foyer, apparaissent les cellules épithélioïdes et géantes entourées bientôt par la couronne lymphocytaire. Le tubercule caséifié ne résulte donc pas de la caséification centrale d'un nodule folliculaire; au contraire, celui-ci se constitue autour du foyer alvéolaire caséeux. Dans la zone épithélioïde, on assiste à une abondante et active néoformation de fibrilles conjonctives qui achèvent l'œuvre d'encerclement et enkystement de la lésion, première étape de la guérison.

Evidemment, toutes les lésions n'aboutissent pas à ce dénouement. De nombreux facteurs, que nous exposerons dans un chapitre suivant, impriment leur marque à l'évolution des phénomènes. Le fait, cependant, qui semble s'imposer avec toute certitude à l'esprit, c'est que les différents aspects que l'on rencontre ne représentent que les différentes phases d'un même processus, identique, quant à son mécanisme physiologique aussi bien qu'à son siège anatomique.

Si, en ce qui concerne la topographie des lésions de la granulie, il existe un accord complet entre le point de vue que nous venons d'exposer et celui de Pagel, autre représentant autorisé de l'école allemande, en ce sens que ce dernier reconnaît à la lésion productive, aussi bien qu'à celle exsudative, un siège commun, l'intérieur de l'acinus, il n'en est pas de même quant à son opinion sur la succession et l'interdépendance des différentes étapes de l'inflammation tuberculeuse.

Ainsi, Pagel [10] ne croit pas qu'une lésion cellulaire soit le *primum movens* de tout processus tuberculeux, et que celui-ci peut, dans certains organes surtout, comme le poumon par exemple, débuter directement par la réaction exsudative. A celle-ci participent le plasma sanguin, la fibrine, des globules rouges, des leucocytes polynucléaires et des grandes cellules : « phagocytes alvéolaires », élément d'origine incertaine, généralement profondément altérés et ayant en bonne partie perdu leurs propriétés phagocytaires. Comme les cellules épithélioïdes, leur origine est probablement des plus variées : endothéliums alvéolaires, cellules septales, ainsi que différents autres éléments du système réticulo-endothélial.

L'avenir de l'exsudat tuberculeux est variable, il peut être résorbé, ou bien subir la transformation caséeuse suivie de ramollissement, si entre temps, et avant le début de la caséification, il

ne s'est pas produit l'enkystement ou la pénétration du foyer inflammatoire par du tissu conjonctif. Enfin, la caséification peut être suivie par la calcification et l'ossification de la lésion.

En ce qui concerne la lésion à caractère productif, Pagel croit qu'elle peut d'emblée se présenter comme telle, sans passer toujours par la phase exsudative. Les éléments qui la caractérisent sont la cellule épithélioïde et la cellule géante. La première provient des endothéliums alvéolaires, des parois vasculaires et des septums alvéolaires. Pour les cellules géantes, il y a lieu de distinguer deux types : la cellule géante jeune qui ne serait qu'une cellule épithélioïde multinucléée, comme résultat de la multiplication amytotique du noyau, et la vraie cellule géante de Langhans, d'origine vasculaire. A côté de ces deux types, Pagel admet aussi la fusion des grands mononucléaires à l'origine de ce qu'il appelle les « précellules géantes » (Vorriesenzellen), qui formeraient des syncytiums monocytaires.

Ce qui, en principe, déterminerait le caractère productif de la lésion, serait la participation presque exclusive d'éléments mésenchymateux, de cellules migratrices d'origine tissulaire, d'hystiocytes, à l'exclusion des éléments migrateurs sanguins. La lésion productive peut subir la transformation conjonctivo-fibreuse ou bien la caséification, et cela à n'importe quel moment et sans repasser par un stade exsudatif comme le voulait Huebschmann, la caséification pouvant entamer le follicule déjà complètement et définitivement constitué.

Comme on le voit, l'évolution récente des idées sur l'histogénèse de la tuberculose en général, et de la granulie en particulier, nous a mené bien loin du dualisme primitif et même du néodualisme plus récent qui, il y a quelques années encore, était la conception d'une autorité en phtisiologie de la taille de Letulle, vers une conception unitaire selon laquelle les aspects si différents, en apparence, des lésions tuberculeuses, sont ramenés à des étapes successives d'un même processus pathologique encadré à son tour dans les lois et phénomènes généraux de l'inflammation. Et cela à la plus grande gloire de Laënnec dont la géniale intuition se trouve encore avoir vu juste dans les relations qu'il établissait entre la granulation miliaire, fruit vert, et le tubercule miliaire, fruit mûr. En effet, si cette relation ne peut plus être conçue aujourd'hui exactement dans le sens où il l'entendait, la granulation étant l'étape primitive par laquelle la lésion tuberculeuse devait passer pour arriver à la caséification, terme de l'évolution du tubercule miliaire, il n'en est pas moins vrai que dans la granulation, le fol-

licule représente une lésion arrêtée en quelque sorte dans son évolution, avortée, sous l'action du processus localisateur et en un certain sens cicatriciel qu'elle représente, tandis que le tubercule miliaire caséifié et ramolli est bien une lésion arrivée au terme final du processus tuberculeux, une lésion « mûre ».

*
**

Cette unité de la topographie et de l'histogénèse du tubercule miliaire une fois admise, quels sont les facteurs qui déterminent la diversité des aspects, sous laquelle se présentent pourtant les lésions de la tuberculose miliaire ?

On avait, au moment où la croyance à la différence fondamentale de la topographie des lésions, les unes alvéolaires, les autres interstitielles, était unanime, attribué la cause à la voie d'apport des bacilles, aérienne dans un cas, sanguine dans l'autre. Ce point de vue a été encore récemment soutenu par S. Doubrow et R. Froment [11], dans leur travail sur le rôle des facteurs locaux dans l'évolution de la tuberculose et, particulièrement, sur le comportement et l'importance des substances fondamentales conjonctives. Pour ces auteurs, toute la différence de structure des lésions tient au substratum conjonctif préexistant et surtout à l'importance de l'atmosphère conjonctive collagène qu'elles trouvent à leur disposition. En effet, d'après leurs observations, dans les lésions exsudatives initiales de date récente, on constate l'existence d'un processus caractérisé par un réseau fibrineux coloré en rouge pourpre par la méthode de Mallory-Masson, réseau abondant s'étendant le plus souvent en masse continue, plus ou moins dense et diffuse, pauvre en éléments cellulaires. On remarque déjà que, par places et surtout à la périphérie, apparaît, aux dépens de la fibrine, un fin réseau collagène coloré en bleu.

Dans la région d'union de ces deux zones de fibrine et de collagène, la substance fondamentale prend une teinte violacée et un fort grossissement y montre un mélange de filaments rouges et bleus, étroitement intriqués. On a véritablement l'impression de saisir sur le vif, en bien des points, le métamorphisme collagène de l'exsudat fibrineux initial. Ces pelotons de collagène se forment avant l'apparition de tout élément cellulaire.

Les lésions d'un âge plus avancé permettent de constater la double évolution subie par le foyer bronchio-pneumonique tuberculeux : d'une part, la caséification de l'exsudat fibrineux, qui perd sa belle teinte rouge; d'autre part, le métamorphisme colla-

gène qui s'observe surtout à la périphérie de la lésion, celle-ci ayant tendance à s'encercler d'une coque fibreuse plus ou moins épaisse. C'est au sein de cette nappe collagène que l'on voit apparaître les cellules géantes de Langhans. Celles-ci ne se trouvent ni dans les plages fibrineuses, ni dans les zones caséeuses, elles apparaissent au sein d'une trame conjonctive néoformée et notamment au niveau du manchon collagène péricaséeux.

Ainsi donc, lorsque — et, de l'avis des auteurs, c'est le cas habituel — la dissémination des bacilles a lieu par voie aérienne, une exsudation fibrineuse étendue représente le premier stade évolutif. Ce processus pneumonique tuberculeux peut, sans doute, dans quelques cas rares, subir une résorption rapide; mais, dans l'immense majorité des cas, ce foyer subit soit la nécrose caséeuse totale, soit le métamorphisme total, soit plus souvent encore celle-là dans la partie centrale, celui-ci à la périphérie.

Quant au follicule giganto-cellulaire, il ne peut se former en dehors du collagène ou de toute autre substance de qualité mécanique égale, et si la tuberculose propagée par voie vasculaire revêt une forme particulière, primitivement folliculaire, ce fait est dû simplement à ce que les bacilles, au lieu de se trouver en présence de tissus alvéolaires, se trouvent plongés d'emblée au sein d'une atmosphère conjonctive collagène constituée par la paroi même des vaisseaux.

Somme toute, les différences morphologiques que présentent les lésions tuberculeuses du poumon (lésions exsudatives, lésions folliculaires) dépendent, selon Doubrow et Froment, du comportement de la substance fondamentale conjonctive du poumon malade. Et si les causes intimes agissant sur le terrain tuberculeux, pour déterminer son mode évolutif, nous échappent encore, il n'en reste pas moins vrai, pensent ces auteurs, que leur action s'exerce par l'intermédiaire de la substance fondamentale locale.

Il est vrai, cependant, que cette participation du réticulum collagène à la formation de la cellule géante, tout en n'ayant pas échappé à d'autres auteurs aussi, a été cependant interprétée de manière différente par certains d'entre eux.

Ainsi, W.-S. Miller [11] a insisté sur le fait que le développement de la cellule géante a pour conséquence l'apparition d'un fin réticulum néoformé qui constitue un réseau entourant la cellule géante et enfermant dans ses mailles les cellules épithélioïdes et les lymphocytes. Ce réticulum, peu développé ou absent dans les lésions de type pneumonique, est un élément précollagène du tissu conjonctif et on peut observer sa transformation ultérieure

en fibres collagènes. Il marque, dès le début, pour ainsi dire, la tendance fibreuse qui est propre au follicule tuberculeux typique. Mais son apparition paraît liée à la présence d'une cellule géante, elle est secondaire et n'implique nullement que le tubercule soit né au sein d'un tissu conjonctif préexistant.

D'autre part, il faut remarquer, pour ce qui concerne le poumon plus spécialement, que de nombreuses observations anatomiques ont prouvé que des granulies à lésions nettement alvéolaires du type exsudatif, de tubercule miliaire, étaient dues à une généralisation par voie sanguine, et que d'ailleurs celle-ci est considérée, par la majorité des observateurs, comme la voie la plus fréquemment suivie par l'invasion des bacilles, quelle que fût la forme : folliculaire, exsudative ou, comme cela arrive le plus souvent, mixte, des lésions. Dans le même sens, les recherches expérimentales de Delarue ont amplement démontré que l'atteinte des alvéoles et la pénétration des bacilles dans ceux-ci était non pas tout aussi massive, mais en tous les cas presque tout aussi fréquente et générale lors de l'infection intraveineuse que par celle aérienne. Mais si pour les localisations intraalvéolaires, qui de l'avis de tous les auteurs sont de beaucoup les plus fréquentes, et cela, quel que fût le caractère de la lésion : folliculaire ou exsudative, la structure de l'organe ne peut plus représenter un facteur déterminant de ce caractère, il est fort probable que, pour les localisations interstitielles, dont l'existence quoique moins fréquente est admise par tous, il faut tenir compte de cet élément. En effet, les lésions dont on peut avec certitude établir la topographie interstitielle, septum interalvéolaire, gaine conjonctive des vaisseaux ou bronches, sont dans la majorité des cas de nature folliculaire. Nous devons cependant faire remarquer que, même pour ces localisations, certains auteurs allemands, Aschoff entr'autres, admettent la possibilité d'une lésion exsudative interstitielle.

L'importance de la structure de l'organe atteint s'impose cependant lorsque l'on est amené à comparer la grande diversité des lésions dans des organes différents atteints simultanément d'une même généralisation sanguine. Il est fréquent, en effet, de l'avis de tous les observateurs, de voir, à l'autopsie d'une granulie généralisée, des lésions presque exclusivement exsudatives dans les poumons, parfois aussi dans le rein (cas de Rist, Rolland, etc.), tandis que le foie est parsemé de lésions qui toutes sont du type folliculaire. Nous avons déjà vu plus haut la place importante que Huebschmann attribuait aux différents éléments de la structure

des organes dans la détermination du type des lésions, comme par exemple l'influence des grandes surfaces libres (séreuses, cavités aériennes) sur la formation et l'abondance de l'exsudat fibrineux ou coagulable, ainsi que l'importance d'un support fibrillaire réticulé préexistant, pour la néoformation du réticulum collagène et hyalin propre à la réaction productive. Grâce à ces facteurs, les organes à parenchyme plein : foie, rate, rein, offriraient un terrain plus favorable au développement du processus productif que les poumons, les séreuses et, en général, les organes à texture plus lâche dans lesquels les lésions exsudatives seraient prédominantes.

En dehors de la voie d'accès, il y a un autre facteur dont il est juste de considérer l'importance, c'est le bacille, sous le double aspect de la virulence et de la dose infectante. L'observation anatomo-clinique, déjà, fait supposer que ses deux facteurs, sans pouvoir évidemment préciser lequel des deux est plus important, ont une influence certaine sur l'évolution des lésions. En effet, ainsi qu'il ressort, entr'autres, des observations de Huebschmann et Arnold, dont Delarue, basé à son tour sur un grand nombre d'observations, confirme les conclusions, deux faits indiscutables s'imposent, à savoir que dans les formes de granulie où la mort survient rapidement, l'on ne trouve à l'autopsie que des lésions exsudatives, tandis que dans les formes prolongées, traînantes, les nodules sont tous fibreux ou folliculaires.

Sans vouloir en ce moment entamer la discussion de la part du terrain, en tant que disposition générale de l'organisme, spécifique ou non spécifique, qui peut être appelée à jouer un rôle important, dans le déterminisme de ces divers aspects de l'évolution clinique et anatomique de la granulie, voyons pour le moment ce que l'expérimentation nous permet d'attribuer aux seules conditions de l'agent infectant, c'est-à-dire la virulence et la dose infectante.

Pour ce qui est de la virulence du bacille, presque tous les essais d'établir une relation entre les différentes formes cliniques de la tuberculose (et cela non seulement pour la granulie, mais même pour des formes les plus variées : tuberculoses chirurgicales, cutanées, etc.) et la virulence des bacilles ont donné des résultats constamment négatifs. Presque jamais, à l'exception de quelques cas isolés de tuberculose cutanée, dans lesquels on a isolé soit des bacilles aviaires, soit des bacilles bovins d'un type atténué, le degré de virulence des bacilles n'était pas en rapport avec celui de la gravité de la maladie, et même certains auteurs

(Opitz et Sheriff [13], Lange [14]) ont pu isoler des formes cliniques, relativement bénignes (tuberculoses osseuses ou articulaires), des bacilles doués d'une grande virulence pour le cobaye et, inversement, des bacilles moins virulents des formes aiguës de tuberculose, méningites ou granulies. Pour le cas spécial de la granulie, Meyenbourg et Ozakaki [15] ont inoculé à des cobayes des fragments de poumon présentant des lésions diverses, les unes exsudatives, les autres productives. Ils n'ont pu noter aucune différence dans l'évolution de la tuberculose de ces animaux.

Il est vrai que d'autres auteurs (Delarue) font remarquer qu'ils ont rencontré, dans les lésions folliculaires interstitielles, non pas des bacilles acido-résistants typiques, mais des granulations iodophiles ou des bâtonnets ni acido-résistants ni iodophiles, et qu'ils considèrent comme des formes dégradées du bacille de Koch ; mais il reste encore à savoir si cette désintégration n'est pas le résultat de la mise en œuvre des forces défensives de l'organisme plutôt que la cause déterminant le type spécial de la lésion. Il est certain que, par l'expérimentation, on a pu déterminer des lésions de granulie avec des bacilles de virulence variable, atténués et même morts, et que l'aspect des lésions variait selon le degré de virulence des bacilles. Il est d'autre part prouvé, par des expériences comme celles de Maximow [16] sur des cultures de tissu, que l'action des bacilles virulents sur les cellules est autrement toxique et nécrosante que celle des bacilles atténués, et il est fort possible que, réellement, comme le suppose Huebschmann, la réaction exsudative et la caséification soit surtout la réponse de l'organisme à l'action des toxines du bacille, la réaction productive, la manière de réagir vis-à-vis des bacilles en tant que corps étrangers. Mais puisque, ainsi que nous l'avons vu, aucun fait précis ne permet jusqu'à ce jour d'affirmer une aussi grande différence de virulence dans la pratique, il faut se demander si des conditions pareilles à celles que détermine l'expérimentateur sont réalisées dans la nature, à moins de supposer que, dans l'organisme même, il se produirait pareille atténuation des bacilles, et cela envers l'organisme envahi lui seul, ce qui au fond revient à admettre plutôt une augmentation de résistance de ce dernier, et nous amène à envisager un autre facteur déterminant, le terrain, conçu cette fois-ci sous l'aspect de la résistance ou la sensibilité, spécifique ou non, de l'organisme vis-à-vis du bacille.

Mais avant d'aborder cet aspect de la question, il nous reste encore quelques mots à dire de l'importance de la dose infectante. Il est d'observation courante que, dans les lésions exsudatives, on

trouve généralement un plus grand nombre de bacilles que dans les follicules, où ils sont plutôt rares, souvent impossibles à déceler. Il est, d'autre part, aussi établi, par des faits expérimentaux, que l'administration de fortes doses de bacilles détermine des lésions pneumoniques et caséeuses, tandis que les lésions folliculaires sont plus fréquentes dans les infections à doses moindres. C'est aussi pourquoi, dans l'expérience sur l'animal, l'infection par voie aérienne, mode d'apport d'une dose massive au contact immédiat des alvéoles, détermine plus facilement des lésions exsudatives que l'infection par voie sanguine à distribution forcément plus disséminée et discrète des bacilles. Mais comme pour la question de la virulence, il y a lieu de se demander si dans la nature, dans l'infection spontanée et la généralisation de la tuberculose chez l'homme, de pareilles différences de doses sont très fréquentes ou entrent pour beaucoup en ligne de compte. Surtout pour ce qui en est du mécanisme de la granulie, nous pensons pouvoir être assez sceptiques à ce point de vue. Evidemment, si l'on admettait la conception de Weigert que la granulie serait due à l'irruption dans la circulation de masses de bacilles, ou même de substance caséeuse provenant de la dislocation de lésions tuberculeuses, de nodules caséeux intravasculaires, ce facteur entrerait certainement pour beaucoup en ligne de compte. Mais outre que les faits anatomiques sont si peu démonstratifs pour ce point de vue que certains auteurs nient absolument la possiblité de ce mécanisme et la préexistence de ces nodules endo-vasculaires, qui serviraient de point de départ à l'infection, n'est-il pas plus plausible, comme le recommande aussi Huebschmann, d'attribuer un rôle bien plus important à la bacillémie intermittente si fréquente chez les tuberculeux, ainsi que l'ont démontré les recherches de Léon Bernard [17], Löwenstein [18] et d'autres auteurs. Et si l'on tient compte des nombreuses démonstrations de l'existence d'un parasitisme latent de l'infection bacillaire (infection sans lésions de Calmette), de bacilles virulents dans des portions indemnes de poumon chez des tuberculeux ou même chez des non tuberculeux (Opie et Aronson) [19], enfin des données expérimentales qui ont prouvé la rapidité de la généralisation du bacille dans l'organisme, ne faut-il pas se demander si vraiment ce n'est pas autant la dissémination du bacille qui est le facteur déterminant, puisque cette dissémination se produit si souvent sans déterminer de lésion, ou si ce ne sont pas des facteurs de terrain, de résistance de l'organisme dont dépendent le développement ou l'avortement de l'infection ? Et ce point de vue est défendu même par des

auteurs qui, ainsi que le fait Pagel, en opposition à Huebschmann, admettent l'existence de foyers tuberculeux intravasculaires et leur accordent une grande place dans la pathogénie de la granulie, tout en reconnaissant que ce seul facteur mécanique n'est pas suffisant et qu'il faut admettre l'intervention de facteurs généraux de terrain pour expliquer : d'un côté, l'effondrement de ces foyers intravasculaires et la libération dans la circulation des bacilles ; d'un autre côté, leur différent sort dans l'organisme, résorption, lésions exsudatives ou productives.

L'observation clinique a d'ailleurs depuis longtemps relevé cette étroite dépendance de la granulie de certains facteurs généraux, qui prouve que les seules conditions anatomiques ne sont pas déterminantes. Il suffirait de citer ainsi la plus grande fréquence des méningites et autres généralisations au cours de certaines saisons, l'étroite relation que l'on a pu établir entre leur éclosion et certaines maladies intercurrentes, ainsi que d'autres facteurs débilitants, surmenage, sous-alimentation ou des facteurs physiologiques comme la puberté, la grossesse, etc.

Mais outre ces facteurs non spécifiques, il faut faire une place importante aux facteurs spécifiques, aux modifications imprimées à l'organisme par l'infection tuberculeuse elle-même, c'est-à-dire aux différents états d'hypersensibilité ou d'immunité relative acquis par l'organisme du fait de sa symbiose plus ou moins longue et sous différentes formes anatomo-cliniques, avec le parasite. A ce point de vue, aussi, l'observation clinique nous fournit de précieuses indications. Il est un fait établi que la granulie n'est pratiquement presque jamais primitive et que toujours on trouve à l'autopsie un foyer tuberculeux, si minime soit-il, qui prouve que l'infection préexistait depuis un temps plus ou moins long dans l'organisme. Mais si la granulie n'est pas primitive, il n'en est pas moins vrai, et ceci toujours l'observation anatomo-clinique le prouve, que sa fréquence est infiniment plus grande chez les individus porteurs de petites lésions, et extrêmement rare, sous sa forme généralisée tout au moins, chez les tuberculeux porteurs de grosses lésions ou d'anciennes tuberculoses. C'est ce que Huebschmann, qui a beaucoup insisté sur ce fait, a appelé la loi de l'exclusion (Ausschliessungsgesetz).

Aussi ne manque-t-il pas de tentatives d'expliquer, aussi bien le déterminisme de la granulie en elle-même, que ses différents aspects en fonction des différents états d'allergie spécifique de l'organisme. Ainsi Pagel, tout en admettant, comme nous l'avons vu, l'importance des lésions intra-vasculaires comme facteur

mécanique, pense que l'effondrement ou la caséification de ces foyers, moment déclanchant de la généralisation, est le fait d'un fléchissement dans l'immunité de l'organisme. Il en est de même pour le sort ultérieur de ces bacilles ainsi mis en liberté, qui selon les circonstances peuvent être détruits ou bien déterminer des lésions qui, à leur tour, peuvent prendre tel ou tel aspect anatomique. Dans les formes heureuses, généralisation sans manifestations cliniques, granulies résorbables, le mécanisme de défense aboutit à la localisation, fixation sur place et probablement destruction des bacilles. Ce seraient, en général, les formes qui histologiquement aboutiraient à la réaction folliculaire soit d'emblée, soit après une courte phase exsudative. Pour les autres, la fréquence plus ou moins grande des lésions folliculaires, productives, est en rapport direct avec la durée de la maladie, ce qui prouve que plus la défense de l'organisme est efficace, plus on trouve de lésions folliculaires. Ainsi le follicule serait, d'après Pagel, l'apanage de l'état allergique, soit acquis au cours de la généralisation même, — granulies à évolution lente et de longue durée, — soit préexistant du fait de l'infection tuberculeuse antérieure. Dans ce dernier cas, la généralisation trouverait l'organisme déjà en état de défense, d'où formation de lésions folliculaires d'emblée, ce qui serait le cas des formes curables, des formes sans manifestations cliniques, des granulies froides.

Pour Huebschmann, qui n'admet pas la théorie de l'envahissement de l'organisme par effondrement d'un nodule intravasculaire, mais plutôt la bacillémie intermittente comme point de départ de la généralisation, pour que celle-ci détermine des localisations des lésions dans les organes, il faut, en dehors des causes non spécifiques dont nous avons déjà parlé, un fléchissement de l'immunité, en elle-même déjà incomplète, puisque, ainsi que nous l'avons vu, c'est chez les individus porteurs de petites lésions, et ajouterions-nous de date récente, que les granulies sont beaucoup plus fréquentes que chez les vieux tuberculeux porteurs de grosses lésions. Quant aux différents aspects des lésions, elles seraient, d'après Huebschmann, en fonction de la forme d'allergie de l'organisme au moment où se produit la généralisation. Acceptant à ce sujet la classification de Rancke, sans pour cela se ranger à la conception d'une évolution cyclique de ces états, il admet que lorsque l'organisme est en état d'hypersensibilité ou d'allergie négative, anaphylactique, ce sont généralement les phénomènes exsudatifs qui prédominent ; quant, au contraire, l'organisme est dans un état d'immunité ou d'aller-

gie positive, ce sont surtout les réactions productives qui prennent le dessus et impriment leur caractère aux lésions ; enfin, dans certaines autres circonstances où les deux états s'équilibrent en se contrebalançant, les deux modes de réaction peuvent se manifester avec une intensité presque égale.

*
**

RECHERCHES PERSONNELLES

Nous nous sommes proposés, dans nos recherches expérimentales, d'établir quelle était l'importance des différents facteurs : dose, virulence des bacilles, ainsi que du terrain, considéré sous l'aspect de l'immunité, dans le déterminisme des différents aspects des lésions de la granulie. A cette fin, nous avons choisi pour toutes nos expériences la même voie d'accès des bacilles, la voie intraveineuse, en faisant varier seulement les facteurs cités plus haut. Nous avons, pour chaque groupe d'expériences, inoculé un certain nombre de lapins, qui ensuite étaient sacrifiés à des intervalles réguliers, tous les cinq jours, jusqu'au quarantième jour pour certaines séries, jusqu'au cent vingtième pour d'autres.

Voici le plan de nos expériences :

Dans une première série, nous avons inoculé des lapins avec des bacilles virulents (bovine Vallée) à des doses variables, en commençant par la dose de un millième de milligramme, un centième, un dixième, et un milligramme, et enfin un centigramme.

Nous avons ensuite étudié comparativement l'action d'un bacille atténué, le B. C. G., inoculé à la dose de un milligramme.

Enfin, pour étudier la réaction de l'organisme en état allergique, nous avons inoculé des bacilles virulents, à la dose de un milligramme, à une série de lapins ayant reçu un mois auparavant un centigramme de B. C. G. dans le péritoine. Cette expérience nous permettant d'étudier la réaction de l'organisme à une réinfection pratiquée à un moment assez rapproché de la primo-infection, nous avons, pour étudier cette même réaction vis-à-vis d'une réinfection pratiquée à un moment plus éloigné de la primo-infection, inoculé une autre série de lapins, avec la même dose de bacilles virulents, mais, cette fois-ci, après un délai de six mois depuis l'injection du B. C. G.

Voici le protocole de nos expériences :

1re Série

Lapins inoculés dans la veine avec 1/1000 de milligramme de bacilles virulents.

1. *Lapin de 1690 grammes, sacrifié après 5 jours.* — A l'autopsie, pas de modifications appréciables à l'œil nu. A l'examen microscopique, on aperçoit quelques îlots d'alvéolite, sans caractère spécifique, situés surtout au voisinage immédiat de la plèvre. Les alvéoles contiennent un exsudat riche en leucocytes, poly et mononucléaires et grandes cellules alvéolaires. On observe aussi, dans les espaces interalvéolaires, une assez forte réaction à poly et mononucléaires.

2. *Lapin de 1640 grammes, sacrifié après 10 jours.* — A l'œil nu, on voit des petits points hémorragiques disséminés à la surface des poumons. A l'examen histologique, les îlots d'alvéolite sont plus nombreux, de dimensions plus grandes avec le même caractère cytologique, alternant avec des foyers hémorragiques.

3. *Lapin de 1990 grammes, sacrifié après 15 jours.* — Macroscopiquement, piqueté hémorragique abondant. A l'examen microscopique : foyers hémorragiques multiples, zones étendues d'alvéolite diffuse à contour irrégulier.

4. *Lapin de 1880 grammes, sacrifié après 20 jours.* — A l'œil nu, points hémorragiques à la surface des deux poumons. A l'examen histologique, on constate que la réaction inflammatoire semble se localiser, se limiter et prendre l'aspect de nodules encore assez diffus et à contour irrégulier. A l'intérieur des alvéoles prédominent maintenant des grandes cellules claires à noyaux volumineux. Dans certains d'entre eux, on remarque une tendance de ces cellules à constituer des syncitiums.

5. *Lapin de 1180 grammes, sacrifié après 25 jours.* — A la surface du lobe inférieur de chacun des poumons, on aperçoit un nodule, de la grosseur d'une tête d'épingle blanc grisâtre pour le poumon gauche, à centre jaunâtre pour le droit. Sur les coupes, on commence à distinguer des formations nodulaires mieux limitées, quoique à contour encore assez irrégulier, constituées par la réunion de plusieurs alvéoles, dont le contenu est de plus en plus représenté par des cellules épithélioïdes.

6. *Lapin de 1650 grammes, sacrifié après 30 jours.* — Quelques rares points blanc grisâtre, 2-3, à la surface de chaque poumon. Sur coupes, on voit maintenant des nodules bien délimités, le centre formé par un grand amas de cellules épithélioïdes, entouré

d'une couronne de lymphocytes. Dans certains de ces nodules, le centre est déjà en voie de nécrose et parfois infiltré de leucocytes polynucléaires. Rarement, et maintenant pour la première fois, dans la couronne lymphocytaire, entourant le centre épithélioïde ou à sa périphérie, on aperçoit une ou deux cellules géantes.

7. *Lapin sacrifié après 40 jours.* — Petites lésions punctiformes blanc grisâtre, isolées, rarement confluentes, disséminées à la surface des deux poumons. Sur coupes, on aperçoit des nodules bien isolés et constitués par une zone de nécrose centrale entourée d'une bande relativement mince de cellules épithélioïdes et d'une couronne lymphocytaire qui s'en va infiltrant les parois d'une rangée d'alvéoles à épithéliums cuboïdes, et dont la lumière est remplie de grosses cellules épithélioïdes, la majorité constituées en syncitiums giganto-cellulaires.

8. *Lapin sacrifié après 47 jours.* — Des granulations, les unes grisâtres, les autres blanc jaunâtre, partie isolées, en partie confluentes, recouvrent la surface des poumons. A l'examen microscopiques, à côté des grands nodules décrits précédemment, vrais tubercules miliaires, on aperçoit maintenant, disséminées en plein parenchyme normal, des petites formations, alvéoles parfois isolés, parfois groupés par deux ou trois, constituant à eux seuls un nodule, dont le centre est représenté par un petit amas de cellules épithélioïdes, la plupart conglomérés en un syncitium giganto-cellulaire ou bien formant déjà une cellule géante typique. Parfois, autour de celle-ci, les autres cellules épithélioïdes ont une tendance à se disposer circulairement, ce qui donne un vague aspect spiralé ou concentrique à ce centre. Pour certains nodules, tout se réduit à ce contenu de syncitium épithélioïde, tandis que, pour d'autres, il est entouré d'une couronne lymphocytaire, le nodule épithélioïde restant logé parfois exactement au centre, parfois à la périphérie de la couronne lymphocytaire.

9. *Lapin sacrifié après 97 jours.* — Les poumons sont encore de volume normal et relativement bien aérés ; à leur surface, on aperçoit quelques nodules, 3-4, de la dimension d'une lentille environ, de coloration gris jaunâtre, faisant légèrement saillie, et de consistance plutôt molle. On en retrouve de pareils sur la surface des sections en débitant le poumon en tranches, mais toujours assez peu nombreux et logés en plein tissu pulmonaire d'apparence normale. Sur coupes, on voit que ces nodules sont représentés par des amas de tubercules miliaires, à multiples centres caséeux, entourés chacun d'une zone de cellules épithé-

lioïdes, de largeur assez réduite, et d'une couronne de lymphocytes. Le tout est séparé du tissu normal environnant par quelques rangées, une à deux, la plupart du temps, d'alvéoles remplis par des cellules épithélioïdes formant souvent des syncitiums giganto-cellulaires.

10. *Lapin sacrifié après 120 jours.* — A la surface des poumons et particulièrement vers leurs bases, on voit de grands nodules ronds, assez régulièrement délimités, de dimensions variant depuis celle d'un grain de riz jusqu'à celle d'une lentille, les plus grands présentant à la section un contenu en voie de ramollissement, les autres étant de consistance encore assez ferme.

L'examen microscopique les montre, constitués par des masses nécrosées et caséeuses qui étranglent entre elles des groupes d'alvéoles à revêtement franchement cuboïdes, donnant l'impression d'un tissu glandulaire. Le contenu de ces alvéoles est représenté pour la plupart d'entre eux par un exsudat séreux, contenant quelques éléments cellulaires, polynucléaires, macrophages et lymphocytes. Tout le nodule est généralement entouré de quelques rangées d'alvéoles remplis de grandes cellules épithélioïdes.

2e Série

Lapins inoculés avec 1/100 de milligramme de bacilles virulents.

Après 5 jours. — Légère congestion des poumons ; à la base, quelques petits foyers hémorragiques. A l'examen microscopique, réaction alvéolaire diffuse à contenu séreux pour la plupart.

Après 10 jours. — Petits foyers hémorragiques à la surface des poumons. Les alvéoles sont remplis d'exsudat, simplement séreux pour les uns, contenant des polynucléaires, des macrophages et des grandes cellules claires, probablement alvéolaires, pour les autres.

Après 15 jours. — L'aspect macroscopique, aussi bien que microscopique, est sensiblement identique au précédent. Il en est de même pour le *lapin sacrifié après 20 jours.*

Après 25 jours. — On aperçoit, à la surface des poumons, quelques rares grains : les uns hyalins, d'autres grisâtres avec un centre blanc. Sur coupes, les foyers d'alvéolite constituent des îlots isolés, à contour irrégulier. Par endroits, les travées interalvéolaires sont épaissies et infiltrées de polynucléaires et lymphocytes.

Après 30 jours. — Les poumons sont recouverts de petits grains hyalins ou blanchâtres, légèrement accuminés. A l'examen microscopique, on voit des nodules constitués par des amas d'alvéoles à réaction cellulaire de cellules épithélioïdes et lymphocytes, des nodules périvasculaires et péribronchiques. Quelques nodules, situés immédiatement sous la plèvre, sont constitués par un centre compact épithélioïde entouré d'une couronne de lymphocytes.

3e Série

Lapins inoculés avec 1/10 de milligramme de bacilles virulents.

Après 5 jours. — Légère congestion des poumons. Sur coupes, réaction d'alvéolite diffuse, quelques rares nodules péribronchiques et périvasculaires constitués surtout par des lymphocytes. Les alvéoles contiennent un exsudat séreux à réaction cellulaire polymorphe : polynucléaires, grands mononucléaires, lymphocytes.

Après 10 jours. — Piqueté hémorragique à la base des poumons. Histologiquement, l'aspect est sensiblement identique au précédent. Il en est de même pour *le lapin sacrifié après 15 jours.*

Après 20 jours. — Quelques petites granulations grises, plus fréquentes surtout à la base. Histologiquement, ce sont des petits foyers d'alvéolite situés surtout immédiatement sous la plèvre.

Après 25 jours. — A la surface des poumons, on voit d'assez nombreuses granulations grisâtres, ou gris jaunâtre, assez espacées les unes des autres. A l'examen microscopique, on voit des foyers d'alvéolite relativement bien circonscrits. Certains de ces foyers, dans lesquels on ne distingue plus que très vaguement le contour des alvéoles, présentent à leur centre, constitué généralement par de grandes cellules épithélioïdes, un début de nécrose, tandis que leur périphérie est entourée par une couronne de lymphocytes. On aperçoit aussi par endroits des nodules lymphocytaires périvasculaires et péribronchiques, certains d'entre eux contenant à leur centre une cellule géante.

4e Série

Lapins inoculés avec 1 milligramme de bacilles virulents.

Après 5 jours. — Congestion intense des deux poumons, avec nombreux foyers hémorragiques et un infarctus hémorragique à la base du poumon gauche. Sur coupes, œdème et infiltration à

polynucléaires des cloisons interalvéolaires. Dans les alvéoles atteints en nappe ou isolés, exsudat séreux, globules rouges et grands mononucléaires. Par endroits, des nodules circonscrits, formés de plusieurs alvéoles ; le centre, contenant des cellules épithélioïdes, entouré d'une couronne lymphocytaire.

Après 10 jours. — Légère congestion des poumons, avec petits foyers hémorragiques vers les bases. Au microscope, on voit des lésions de même caractère que les précédentes, mais occupant des territoires plus limités, avec tendance à former des nodules constitués par la réunion de plusieurs alvéoles.

Après 15 jours. — Aspect macroscopique et microscopique sensiblement pareil au précédent, avec en plus une hypertrophie marquée des nodules lymphocytaires périvasculaires et péribronchiques.

Après 20 jours. — La surface des poumons recouverte de granulations grisâtres, hyalines. Sur coupes, on constate que le caractère diffus de la réaction alvéolaire a presque disparu ; les foyers d'alvéolite constituent maintenant presque exclusivement des nodules, pour la plupart représentés par des groupements de plusieurs alvéoles remplis de grands mononucléaires, cellules épithélioïdes et lymphocytes et de très rares polynucléaires. A la périphérie de certains vaisseaux, on observe des nodules lymphocytaires accolés à la paroi du vaisseau, avec tendance à faire irruption dans la lumière de celui-ci. Enfin, immédiatement sous la plèvre, quelques nodules, bien délimités, sont constitués exclusivement par des amas de lymphocytes.

Après 25 jours. — Nodules blanc grisâtre disséminés à la surface des poumons : les uns isolés, les autres confluents. Sur les coupes, on peut distinguer déjà à l'œil nu des nodules de tissu condensé, qu'à l'examen microscopique on voit constitués par des îlots à contour irrégulier, à centre hyalin, formé par des amas de cellules épithélioïdes, entouré d'une mince couronne de lymphocytes. Certains d'entre eux présentent un début de nécrose à leur centre, d'autres une infiltration de polynucléaires. On voit certains de ces amas constituer des manchons autour des vaisseaux et des bronchioles.

Après 40 jours. — A la surface des poumons, des nodules blanc jaunâtre, confluents pour la plupart. Sur coupes, on voit des nodules à contour irrégulier, constitués par des masses d'infiltration de mononucléaires et lymphocytes, entourant des centres de nécrose. A la périphérie, les alvéoles encore bien distincts sont cependant tous remplis d'un exsudat riche en cellules

épithélioïdes qui, dans certains d'entre eux, se groupent en syncitiums multinucléés.

Après 50 jours. — Nodules blanc jaunâtre très nombreux, confluents à la surface des poumons.

Après 60 jours. — Les nodules sont moins nombreux que chez le précédent, mais de dimensions beaucoup plus grandes ; les uns présentent un centre translucide grisâtre, entouré d'un cercle blanc, opaque.

Après 70 jours. — Même aspect que chez le précédent, les lésions sont de dimensions plus grandes.

Après 80 et 90 jours. — Les poumons sont augmentés de volume; les nodules, de très grandes dimensions, sont maintenant presque tous confluents, ne laissant que peu d'espace libre entre eux.

Au point de vue microscopique, chez ces derniers lapins, on constate une extension de plus en plus grande des lésions gardant toujours le même caractère que celui décrit pour le lapin sacrifié après 40 jours. Le quatre-vingt-dixième jour, à peine, on remarque dans quelques-uns des alvéoles, à la périphérie de ces foyers, la réaction cellulaire représentée par un amas giganto-cellulaire.

Nous avons, pour cette série, suivi aussi les lésions déterminées dans le foie par l'injection intra-veineuse de bacilles. Jusqu'au vingtième jour, on constate la présence de nodules constitués par des mono et polynucléaires, ainsi que des lymphocytes situés entre les travées hépatiques. Vers le vingt-cinquième jour, ces nodules prennent une forme assez régulièrement arrondie, à centre plus hyalin constitué par des cellules épithélioïdes et entouré d'une couronne lymphocytaire.

Vers le quarantième jour, on voit de nombreuses formations rondes, constituées par une centre hyalin homogène entouré d'une couronne de noyaux intensément colorés, disposés en demi-cercle et donnant l'impression d'une formation giganto-cellulaire. Dans certaines de ces formations, le centre est complètement nécrosé et rempli de débris cellulaires.

5e Série

Lapins inoculés avec 1 centigramme de bacilles virulents.

Après 5 jours. — Congestion intense des poumons et nombreux foyers hémorragiques. Sur les coupes, on voit les alvéoles remplis de globules rouges et d'un exsudat séreux contenant des mononucléaires, lymphocytes et cellules endothéliales.

Après 10 jours. — Congestion intense et foyers hémorragiques dans les deux poumons. A l'examen microscopique, on voit, à côté de territoires étendus d'alvéolite diffuse, se constituer déjà des nodules bien délimités, à contour irrégulier, à centre plus clair formé de cellules épithélioïdes et à couronne lymphocytaire.

Après 15 jours. — La congestion des poumons est moins intense, on voit encore quelques rares foyers hémorragiques et d'hépatisation vers les bases. Sus les coupes, on voit les nodules précédemment décrits, mais de dimensions plus grandes, accroissement dû en bonne partie à l'augmentation de leur couronne de lymphocytes.

Après 20 jours. — La surface des poumons est recouverte d'un semis de granulations grises. L'aspect microscopique ne diffère pas beaucoup de celui trouvé chez l'animal précédent, à cette différence près que certains nodules présentent à leur centre un foyer de nécrose.

Après 25 jours. — Le semis de granulations est plus épais et ces dernières sont de dimensions plus grandes et en partie confluentes. Sur les coupes, on distingue maintenant déjà, à l'œil nu, des nodules compacts à contour irrégulier. A l'examen microscopique, on voit que leur centre est nécrosé et infiltré de leucocytes polynucléaires.

6e Série

Lapins inoculés avec 1 milligramme de B. C. G.

Après 5 jours. — A l'œil nu, on ne constate pas de lésion apparente des poumons. L'examen microscopique décèle un processus d'alvéolite diffus caractérisé par la présence d'exsudat séreux et réaction cellulaire à hématies et mononucléaires.

Après 10 jours. — Les poumons sont aérés, de volume normal, un petit foyer d'hyperémie dans le lobe supérieur droit. A l'examen microscopique, on distingue des nodules déjà bien délimités, avec un centre à caractère nettement épithélioïde et participation très réduite des lymphocytes. On peut très bien se rendre compte que ces nodules sont constitués par l'accolement de plusieurs alvéoles, parce que, dans certains d'entre eux, le contenu alvéolaire, étant un peu rétracté, permet très nettement de distinguer les parois interalvéolaires. Une partie de ces nodules sont situés en plein tissu pulmonaire normal, d'autres sont entourés d'une zone d'alvéoles distendus remplis d'exsudat séreux et de cellules plus ou moins nombreuses, la plupart grandes cellules épithé-

lioïdes, isolées, groupées ou bien même, dans certains alvéoles, constituées en syncitiums multinucléaires.

Après 15 jours. — Les poumons sont aérés et de volume normal, excepté la moitié supérieure du poumon droit qui présente une zone assez étendue d'hépatisation. A l'examen microscopique, on voit des nodules d'assez grandes dimensions nettement circonscrits et dont le contour irrégulier laisse clairement entrevoir leur constitution multialvéolaire. Certains d'entre ces nodules ont un centre homogène probablement en voie de nécrose; chez d'autres, le centre est infiltré de polynucléaires. On en rencontre aussi, mais rarement, qui sont centrés par une cellule géante typique entourée de cellules épithélioïdes et d'une couronne de lymphocytes.

Après 20 jours. — Les poumons sont d'aspect complètement normal. Sur coupes, on voit des nodules plus rares et de petites dimensions, leur centre est tantôt nécrosé, tantôt infiltré de polynucléaires. Ils sont situés ou bien en plein tissu pulmonaire normal, ou bien entourés d'une zone d'alvéoles remplis d'exsudat et de grandes cellules épithélioïdes, accolées la plupart, rarement formant des cellules géantes.

Après 25 jours. — Les poumons sont légèrement augmentés de volume et présentent quelques zones d'infarctus hémorragiques. A l'examen histologique, on trouve des nodules bien délimités, de petites dimensions, situés au milieu d'un parenchyme normal et constitués exclusivement par des cellules épithélioïdes qui, parfois, prennent une disposition spiralée en couches concentriques, tout le nodule ayant une tendance à prendre une forme de plus en plus circulaire.

Après 30 jours. — Les poumons sont d'aspect normal, avec seulement quelques rares points hémorragiques à la surface. Sur de nombreuses sections pratiquées dans différentes régions, on ne trouve, à l'examen microscopique, presque pas de lésions. Les rares nodules que l'on rencontre ont les mêmes caractères que dans le cas précédent.

Après 40 jours. — Poumons rosés, aérés, de volume normal; quelques rares et discrètes granulations grisâtres. Sur coupes, on voit des nodules constitués par un centre épithélioïde, parfois centrés par une ou plusieurs cellules géantes et situés en parenchyme normal ou bien entourés d'une zone d'alvéolite à cellules épithélioïdes.

Après 50 jours. — Poumons d'aspect normal; vers les bases, quelques petites granulations grisâtres. Sur la plus grande partie

des coupes, on ne rencontre pas de lésions; sur celles intéressant les nodules précités, on trouve un aspect assez particulier. Il s'agit de zones de condensation assez étendues, à contour irrégulier et limites peu marquées, constituées par des alvéoles remplis de cellules épithélioïdes. Les parois de ces alvéoles ont un épithélium de revêtement nettement cuboïde, ce qui donne à première vue l'impression d'avoir à faire à un tissu glandulaire. Aussi bien, les septums interalvéolaires que la lumière des alvéoles sont infiltrés d'une masse de mononucléaires qui entourent les syncitiums épithélioïdes, s'infiltrent entre leurs éléments et, parfois, les disloquent complètement, prenant leur place en beaucoup d'endroits. Dans ce dernier cas, on voit l'alvéole presque complètement rempli par ces mononucléaires, entre lesquels persistent encore quelques cellules épithélioïdes isolées. Dans d'autres alvéoles, les deux types de cellules ont presque disparu; on voit seulement quelques rares cellules épithélioïdes, sans connexions les unes avec les autres, à contour flou et comme effiloché parfois.

Après 70 jours. — L'aspect macroscopique des poumons est parfaitement normal; sur coupes, on rencontre encore par endroits des zones de l'aspect précédemment décrit.

7e Série

Lapins ayant reçu dans le péritoine 1 centigramme de B. C. G. et, un mois plus tard, 1 milligramme de bacilles virulents dans la veine.

Après 5 jours. — Léger piqueté hémorragique vers les bases des poumons. Sur coupes, réaction d'alvéolite généralement diffuse; par endroits, cependant, des groupes d'alvéoles forment des masses compactes remplies en grandes partie par des gros mononucléaires avec, vers le centre, des cellules épithélioïdes. Certains de ces groupements constituent des nodules délimités, dont le contour a déjà une tendance à s'arrondir; ils se distinguent, en outre, par un centre clair épithélioïde de dimensions réduites, dont les éléments prennent souvent l'aspect d'une cellule géante. On voit, par endroits, accolés aux parois des vaisseaux et des bronchioles, des petits nodules formés de mononucléaires, centrés d'une cellule géante et entourés d'une couronne de lymphocytes. Les travées interalvéolaires sont en partie gonflées par l'œdème et l'infiltration cellulaire.

Dans les coupes de foie, on voit, entre les travées hépatiques,

des petits foyers inflammatoires, amas de mononucléaires, polynucléaires et lymphocytes.

Après 10 jours. — Les poumons sont aérés, de couleur rosée, leur surface recouverte d'un semis de nodules blanc grisâtre légèrement surélevés. Histologiquement, il s'agit d'amas d'alvéoles remplis d'exsudat et de réaction cellulaire, avec le centre constitué surtout par des cellules épithélioïdes, parfois un début de nécrose et infiltration de polynucléaires. Dans bon nombre de ces nodules, on constate la présence de cellules géantes soit au centre, soit à la périphérie du nodule, ces derniers ayant plus souvent le caractère de cellules géantes typiques, les premières ayant plutôt l'apparence de syncitiums multinucléés.

Sur les coupes de foie, on rencontre les mêmes foyers inflammatoires, précédemment décrits, mais tous, déjà, sont centrés d'une cellule géante. Indépendamment de cela, on rencontre un bon nombre de cellules géantes, isolées, sans nulle autre réaction inflammatoire, disséminées entre les travées hépatiques.

Après 15 jours. — La surface des poumons est recouverte d'un semis de granulations gris jaunâtre. A l'examen microscopique, on voit des nodules bien délimités, avec au centre des cellules épithélioïdes, entourés d'une couronne lymphocytaire et d'une zone d'alvéoles contenant de nombreux syncitiums épithélioïdes giganto-cellulaires.

Dans le foie, les mêmes nodules que ceux précédemment décrits, de dimensions un peu plus grandes, et un grand nombre de cellules géantes aussi bien au centre de ces nodules qu'isolées en plein parenchyme normal.

Après 20 jours. — La surface des poumons est recouverte de granulations grisâtres, ainsi que de quelques nodules blanc jaunâtre à contour légèrement irrégulier. Histologiquement, il s'agit de nodules bien délimités, à contour arrondi, situés au milieu du parenchyme normal; le centre en est formé par des cellules épithélioïdes, avec ou sans présence de cellules géantes, et entouré d'une couronne lymphocytaire assez réduite comme dimensions.

Après 25 jours. — A la surface des poumons, semis de fines granulations grises. Ce qui frappe à l'examen microscopique des coupes, c'est l'extrême abondance des cellules géantes. Comme le contenu des alvéoles, remplis de cellules épithélioïdes, a subi une légère rétraction, on voit très bien que presque tous les nodules sont constitués par l'accolement de plusieurs alvéoles. Leurs parois ont toutes subi la transformation cuboïde de leur revêtement, ce qui donne à certaines portions de la coupe un

aspect de tissu glandulaire. Vers le centre de ces amas, la lumière de ces alvéoles est remplie de cellules épithélioïdes isolées ou accolées les unes aux autres; mais ce qui est surtout frappant, c'est l'aspect des alvéoles situés à la périphérie des nodules, ou presque chaque alvéole contient une cellule géante, certains même n'ayant pour tout contenu qu'une seule et énorme cellule géante. L'abondance de ces dernières est tout aussi importante dans les nodules périvasculaires et péribronchiques.

Après 30 jours. — A la surface des poumons, on voit quelques nodules blanc grisâtre, d'assez grandes dimensions, à contour irrégulier. Sur coupes, on voit comme une dissociation des nodules en alvéoles distincts, les septums interalvéolaires se dessinant à nouveau de manière très marquée, grâce à la transformation cuboïde de leur revêtement. Quant à leur contenu, il est représenté généralement par des syncitiums multinucléaires. Dans les alvéoles situés vers la périphérie des nodules, on rencontre des zones d'infiltrations à polynucléaires.

Sur les coupes de foie, on ne rencontre que de très rares cellules géantes isolées : une, tout au plus deux par coupe. Les nodules inflammatoires précédemment décrits ont beaucoup diminué comme dimensions et comme nombre, et paraissent subir une transformation fibreuse.

Après 40 jours. — Très rares nodules à la surface des poumons, cinq à six sur chacun d'eux, de coloration blanc jaunâtre, situés surtout vers les bases. Sur coupes, on en rencontre à peine un à deux par section, avec le même caractère que précédemment, sauf peut-être une plus intense infiltration à polynucléaires.

Après 50 jours. — L'aspect macroscopique des poumons est sensiblement le même, les nodules très rares et espacés. L'examen microscopique confirme la rareté des lésions, les nodules sont bien délimités, situés au milieu du parenchyme normal. Aussi bien le centre partiellement nécrosé que la périphérie, et ici surtout les parois interalvéolaires, sont abondamment infiltrés de leucocytes polynucléaires. Ce qui frappe aussi, c'est une disposition légèrement trabéculaire, avec tendance à devenir fusiformes, de la part des cellules épithélioïdes vers la périphérie des nodules.

Sur plusieurs coupes de foie, que nous avons examinées, nous n'avons plus rencontré de lésions.

Après 60 jours. — Les nodules sont encore plus rares, certains d'entre eux cependant de dimensions plus grandes, à centre translucide entouré d'un cercle blanc jaunâtre. L'aspect histologique est identique au précédent.

8e Série

Lapins ayant reçu dans le péritoine 1 centigramme de B. C. G., inoculés dans la veine avec 1 milligramme de bacilles virulents, six mois plus tard.

Après 5 jours. — Légère hyperémie des poumons avec quelques infarctus hémorragiques vers les bases. Sur coupes, on voit des foyers d'alvéolite généralement de peu d'étendue, limitée à des groupes de deux à trois alvéoles; les uns remplis seulement de cellules épithélioïdes, les autres de grands mononucléaires et lymphocites avec, au centre seulement, un groupe plus clair de cellules épithélioïdes constituées parfois déjà en syncitium giganto-cellulaire. Par endroits, les travées interalvéolaires sont épaissies et infiltrées de leucocytes et quelques rares éléments épithélioïdes.

Après 10 jours. — Légère hyperémie des poumons. Quelques très fines granulations grises, à peine perceptibles, vers la base des poumons. A l'examen microscopique, on voit des nodules un peu plus fréquents et grands que précédemment, constitués par l'accolement de plusieurs alvéoles distinctement séparés encore les uns des autres par leurs parois rendues plus évidentes, grâce à l'infiltration leucocytaire des septums et la tendance à la transformation cuboïde de leur revêtement. Leur contenu est presque exclusivement constitué par de grandes cellules épithélioïdes disposées en nappe continue. Dans de nombreux alvéoles, on rencontre soit au centre, soit à la périphérie de ce placard épithélioïde, des cellules géantes; dans certains même, il n'y a pour tout contenu de l'alvéole qu'une unique cellule géante occupant toute la lumière. On remarque aussi, dans d'autres alvéoles, une tendance des cellules épithélioïdes à prendre une disposition concentrique. Dans certains alvéoles, il y a un début d'infiltration à polynucléaires, mais pas la moindre trace de nécrose.

Après 15 jours. — A la surface des poumons, légèrement hyperémiés, on voit le même semis de granulations grisâtres, de dimensions un peu plus grandes peut-être, et localisé surtout vers les bases. Histologiquement, les nodules sont constitués par des groupes d'alvéoles encore bien distincts les uns des autres, remplis de cellules épithélioïdes, de fréquentes cellules géantes, et participation encore réduite de lymphocytes.

Après 20 jours. — L'aspect macro et microscopique des poumons est très semblable à celui de l'animal précédent, avec seu-

lement accentuation de la transformation cuboïde du revêtement alvéolaire.

Après 25 jours. — A la surface des poumons, on voit de nombreuses granulations, la plupart grisâtres, certaines blanc jaunâtre. Leur constitution histologique est toujours celle précédemment décrite, avec une tendance plus marquée des nodules à prendre une forme plus nettement circulaire et une disposition concentrique des éléments cellulaires.

Après 30 jours. — Nombreuses granulations grises et blanches à la surface des deux poumons, plus abondantes vers les bases. Histologiquement, l'aspect des lésions diffère peu des précédentes.

*
**

COMMENTAIRES

Si nous passons maintenant à l'analyse des faits exposés dans les protocoles de nos expériences, une première constatation d'ordre général s'impose immédiatement. C'est que l'expérimentateur qui aurait le désir d'obtenir des préparations démonstratives de follicules tuberculeux typiques, et qui à cette fin aurait recours à la technique qui, *a priori*, semble s'imposer comme la plus indiquée, c'est-à-dire l'inoculation intraveineuse de bacilles tuberculeux, ne tarderait pas à subir une bien vive déception.

En effet, que ce soit avec de très petites doses, millième et centième de milligramme, qu'on aille en augmentant les doses, dixième de milligramme, milligramme ou centigramme, le résultat est presque toujours le même. Quoique, macroscopiquement, on réussisse à déceler des lésions précoces qui présentent tous les caractères de la granulation grise, jusqu'à ceux propres au tubercule miliaire, à aucun moment de ces stades initiaux de la lésion ne rencontre-t-on le follicule tuberculeux caractéristique avec la cellule géante typique. Il faut pour cela attendre très longtemps; pour les lapins inoculés avec un millième de milligramme, par exemple, plus de 30 jours. A ce moment seulement, après que des nodules, foyers d'alvéolite, se sont déjà constitués en nombre appréciable, et que déjà on aperçoit au centre de certains d'entre eux des petits foyers de nécrose, on rencontre enfin, et cela encore assez rarement, à la périphérie de ces nodules, dans la couronne lymphocytaire qui les entoure, ou bien en dehors de celle-ci, une ou deux cellules géantes.

Aves les doses plus fortes, 1 centigramme, il arrive que l'on suive les animaux jusqu'au vingt-cinquième jour, sans rencontrer de cellule géante; avec 1 milligramme, c'est à peine vers le quarantième jour qu'on en voit par ci par là, une ou deux, sous forme de syncitium multinucléé, et c'est à peine vers le quatre-vingt-dixième jour, et lorsque les lésions ont pris déjà une grande extension et forment de grandes masses confluentes d'infiltration, avec centres nécrosés, que l'on commence à voir, à la périphérie de ces foyers, des cellules géantes en plus grand nombre. Ces images ne laissent aucun doute sur la vraie succession des formations. Elles permettent d'affirmer en toute certitude que lorsque nous nous trouvons en présence d'un nodule présentant à son centre un foyer de nécrose et entouré de quelques cellules géantes, il ne s'agit pas là de l'accolement de plusieurs follicules giganto-cellulaires ayant ultérieurement subi la nécrose, mais au contraire d'un processus d'emblée exsudatif, arrivé à la nécrose et la caséification, et à la périphérie duquel, secondairement, apparaissent des formations folliculaires. Nous discuterons plus loin, à l'appui d'autres éléments tirés de nos expériences, quels sont les facteurs déterminants de ce nouvel aspect des lésions; pour le moment, en nous en tenant simplement aux données de la succession chronologique, nous croyons seulement pouvoir affirmer que la formation folliculaire doit être considérée comme une lésion secondaire et non primitive. D'autres faits encore viennent à l'appui de cette manière de voir. Nous avons, dans nos protocoles d'expériences, signalé le fait que chez les lapins inoculés avec 1/1000 de milligramme de bacilles virulents, on remarquait, le quarante-septième jour, à côté des grands nodules, partiellement nécrosés et entourés des cellules géantes dont nous avons précédemment parlé, des petits nodules, disséminés en plein parenchyme sain, constitués par des alvéoles parfois isolés, parfois groupés par deux ou trois, et dont la lumière est remplie d'un exsudat cellulaire riche surtout en cellules épithélioïdes conglomérées vers le centre en un syncitium giganto-cellulaire, ou bien même sous l'aspect d'une cellule géante typique. Pour certains nodules, tout se réduit à ce contenu de syncitium épithélioïde; pour d'autres, il est entouré d'une couronne lymphocytaire, le nodule épithélioïde restant logé parfois exactement au centre, parfois à la périphérie de la couronne lymphocytaire. La tendance qu'ont les cellules épithélioïdes, dans certains de ces nodules, à prendre une disposition concentrique, ainsi que la forme assez régulièrement arrondie que, pour une bonne part, ils affectent, nous autorisent

à les considérer comme correspondant à la description typique de la formation folliculaire.

Nous voyons donc que chez l'animal neuf, inoculé avec des bacilles virulents, les formations folliculaires apparaissent tardivement après que les lésions primitives, celles-là non folliculaires, sont arrivées déjà à un développement déjà assez avancé, comme dimensions, et ont déjà subi la plupart un commencement de nécrose. On les rencontre soit à la périphérie de ces dernières, soit comme formations indépendantes isolées au milieu du parenchyme normal. Nous croyons pouvoir les considérer comme des lésions secondaires caractérisant l'extension de l'infection bacillaire, soit par propagation directe, lorsqu'il s'agit des premières, soit par dissémination, pour la seconde catégorie.

Si, maintenant, on se demande à quoi tient cette différence de réaction de l'organisme, à type exsudatif une fois, folliculaire l'autre fois, on est de prime abord amené à éliminer la voie d'accès comme facteur déterminant, de par le fait même de la technique expérimentale que nous avons employée, tous nos animaux ayant été inoculés par voie intraveineuse. Il y aurait lieu cependant de se demander si la localisation anatomique des germes ne serait pas responsable de ces différences, selon qu'elle aurait été intraalvéolaire ou interstitielle. C'est d'ailleurs une des causes les plus généralement admises de la différence des deux types de réaction, la réaction folliculaire étant considérée comme l'apanage du tissu interstitiel, tandis que la réaction non folliculaire serait le propre des localisations intraalvéolaires. Outre qu'il serait malaisé, dans ce cas, d'expliquer pourquoi les lésions les premières en vue seraient du type exsudatif, les lésions folliculaires ne faisant que tardivement leur apparition, l'examen attentif de nos préparations prouve que rien ne justifie ce point de vue.

Pour les lésions non folliculaires, il n'y a aucun doute quant à leur localisation, elles sont en grande majorité de localisation intraalvéolaire. Les nodules qui aboutissent à la formation du tubercule miliaire ne sont en réalité que des foyers d'alvéolite, des conglomérats d'alvéoles remplis d'un exsudat riche en éléments cellulaires, finissant par subir la nécrose et la caséification spécifique. Etant donné la richesse de ces formations anatomiques en éléments migrateurs du sang, ainsi qu'en éléments mobilisables provenant de leur revêtement endothélial, il est naturel que cette réaction exsudative atteigne le degré le plus important dans l'alvéole même. Il faut toutefois remarquer que pareille réaction

se manifeste, quoique à un degré moindre, aussi dans le tissu interstitiel, les travées interalvéolaires étant en même temps gonflées et infiltrées en assez grande abondance de polynucléaires et mononucléaires et lymphocytes. Evidemment, ici, la réaction est moins intense, étant donné l'absence et d'un espace libre, comme la lumière des alvéoles, et des éléments mobiles et mobilisables qui se rencontrent dans ces derniers, qui pour cette raison ont été considérés comme le siège exclusif de la réaction non folliculaire. Non seulement celle-ci n'est pas l'apanage des alvéoles, mais tout aussi peu la réaction folliculaire est spécifique du tissu interstitiel. En effet, lorsque cette dernière fait son apparition, c'est, comme nous l'avons déjà dit, sous forme d'amas de cellules épithélioïdes, de syncitiums multinucléés, enfin de vraies cellules géantes, dans la lumière même des alvéoles entourant le tubercule miliaire. Quant aux nodules isolés, si pour certains d'entre eux il est plus malaisé de se rendre compte de leur origine alvéolaire, il y en a en échange bon nombre, saisis soit au début de leur formation, soit plus tard, pour lesquels cette constitution n'est pas douteuse.

Sans doute, le système interstitiel participe à la réaction folliculaire, et dans tous les éléments qui en font partie, travées interalvéolaires, gaines périvasculaires lymphatiques et bronchiques, on rencontre, en même temps que dans les alvéoles, des formation folliculaires. Parfois même, ici, devancent-elles l'apparition de ces formations dans les alvéoles. En tous les cas, cependant, c'est d'une différence de degré, quantitative et non qualitative qu'il s'agit, et si il est certain que la structure de l'organe ou des éléments d'un organe joue un rôle important dans le déterminisme du caractère de la réaction, pour le poumon nous n'avons pas l'impression que ce rôle soit d'une importance primordiale.

Il n'en est pas de même, il est vrai, pour d'autres organes, et à ce point de vue nous avons pu nous convaincre que lorsqu'il s'agit du foie, à conditions égales, la réaction à type folliculaire est non seulement beaucoup plus précoce, mais aussi de beaucoup prédominante. Ayant ainsi ramené à ses justes proportions le rôle de la structure anatomique de l'organe, dont l'importance, pour le poumon tout au moins, nous semble avoir été de beaucoup surestimée, il nous reste à apprécier la part des autres facteurs.

Entre ceux-ci, il paraît de prime abord que la dose infectante doit occuper une place assez importante. Voici ce qui, à ce point de vue, se dégage de nos expériences. Lorsque l'inoculation est faite avec des doses grandes ou moyennes, il est bien rare de ren-

contrer des formations folliculaires, et on voit aboutir les lésions à la nécrose et à la caséification et prendre une extension assez importante avant de rencontrer, ou même sans rencontrer, des lésions de ce type. Leur apparition est plus précoce lorsque l'inoculation est faite avec des petites doses, 1/1000 de milligramme, par exemple. Dans ce cas, avant que les lésions aient atteint de trop grandes dimensions ou bien que la nécrose et la caséification soit trop avancées, on rencontre déjà, à la périphérie de ces foyers, des formations giganto-cellulaires. Par endroits même, on rencontre pareilles formations indépendamment de toute autre lésion, preuve que la tendance à la réaction folliculaire est, dans ce cas, assez précoce, quoique peu marquée.

Enfin, le fait que les lésions folliculaires font leur apparition tardive soit à la périphérie des gros nodules déjà existants, soit dans les petites lésions secondairement apparues, laisserait supposer que ce caractère est dû à l'inoculation plus discrète par des bacilles essaimant des foyers primitifs et ensemençant en plus petit nombre des nouveaux territoires. Mais comme nous aurons l'occasion de le voir plus tard, ce facteur, quoique ayant aussi sa part, n'est certainement pas le seul ou même le plus important; aussi nous reste-t-il à passer en revue les autres éléments déterminants de ce processus.

A ce point de vue, il y a lieu d'envisager l'importance de la virulence du bacille infectant. Chez les animaux inoculés avec un bacille de virulence très atténuée, comme le B. C. G., nous avons pu constater que l'apparition des cellules géantes est un peu plus précoce que chez ceux inoculés avec des bacilles virulents. Nous en avons même rencontré au centre de petits nodules isolés, et non seulement à la périphérie d'anciennes lésions, et cela assez tôt pour pouvoir les considérer comme des nodules primitifs et non pas de seconde génération. Pourtant, si leur apparition est assez précoce, le nombre de cellules géantes n'est jamais très grand, et même on pourrait dire qu'au lieu d'assister à une augmentation en importance de la réaction folliculaire, celle-ci a plutôt une tendance à rétrocéder, comme d'ailleurs toutes les lésions déterminées par le B. C. G., que nous avons vues devenir plus rares tant à l'examen macroscopique qu'à celui microscopique. Ceci nous fait croire qu'un certain degré de virulence, une résistance à la résorption sont nécessaires, de la part du bacille, pour stimuler la réaction de défense du type folliculaire. Là où l'organisme peut venir à bout de l'infection au prix d'un moindre effort, nous assistons à une régression des lésions

avant que ne se produise la réaction folliculaire. Il se peut cependant qu'avec un moindre degré d'atténuation des bacilles, la réaction folliculaire soit plus marquée; à ce point de vue, des expériences avec le bacille humain, qui malheureusement manquent à nos recherches, auraient peut-être permis de réaliser des conditions plus favorables.

Mais le facteur qui nous a semblé être déterminant pour le caractère des lésions, c'est l'état d'allergie de l'organisme. En effet, à ce point de vue, nos deux séries de lapins, immunisés par le B. C. G. et réinfectés, les uns après un, les autres après six mois, nous paraissent tout à fait démonstratives. Comme il ressort de nos protocoles d'expériences, on voit déjà sur les coupes de poumon des animaux sacrifiés dès le sixième jour, un nombre appréciable de formations folliculaires à siège aussi bien intraalvéolaire qu'interstitiel, constituées par des cellules géantes centrales à couronne épithélioïde et lymphocytaire. En même temps, la réaction folliculaire, à la périphérie des foyers exsudatifs, est extrêmement précoce et revêt une intensité que nous n'avons rencontrée chez aucun des autres animaux sacrifiés. Il n'y a presque pas d'alvéole, à l'entour de ces foyers, qui ne contiennent soit des syncitiums, soit de vraies cellules géantes typiques. Plus qu'ailleurs, nous avons pu, à cette occasion, nous convaincre, devant ces images démonstratives d'alvéoles remplis de cellules géantes, que le caractère folliculaire de la lésion n'est nullement lié à son siège interstitiel.

Si, maintenant, on rapproche de ces constatations le fait que nous avons préalablement cité, que chez l'animal neuf l'apparition des lésions folliculaires avait lieu tardivement, en quelque sorte de manière secondaire, on se rend facilement compte que, dans un cas comme dans l'autre, la véritable cause est la même, c'est-à-dire l'état d'immunité de l'organisme. Immunité préexistante grâce à la vaccination préalable chez les uns, immunité s'établissant au fur et à mesure de l'évolution du processus tuberculeux dans l'organisme, chez les autres. Dans un cas, les bacilles amenés par voie sanguine trouvent un terrain déjà préparé et les lésions prennent d'emblée, là où ceux-ci arrivent en moindre quantité, un caractère folliculaire; ou bien, là où leur nombre étant trop grand la lésion prend d'abord un caractère exsudatif, l'évolution vers le type folliculaire se fait rapidement, d'où apparition précoce des cellules géantes à la périphérie des foyers d'alvéolite. Dans le second cas, les bacilles envahissent un organisme neuf, peu capable de se défendre, les lésions ont un

caractère exsudatif; mais, au fur et à mesure que l'immunité s'établit et là où le nombre des bacilles diminue, c'est-à-dire vers la périphérie des foyers, apparaissent les formations folliculaires. En même temps, les nouvelles disséminations, qui se font secondairement dans le poumon, trouvent maintenant un terrain transformé, ce qui fait que grâce à cette modification du terrain, grâce aussi au nombre probablement moindre des bacilles, les lésions prennent maintenant d'emblée le caractère folliculaire.

Si nous tâchons de faire maintenant la synthèse des différents faits que nous avons analysés dans les paragraphes précédents, nous pouvons l'exprimer en disant que le caractère anatomique des lésions déterminées par le bacille de Koch dans l'organisme est en fonction du rapport de forces entre les deux principes antagonistes en présence : action pathogène du bacille d'un côté, réaction de défense de l'organisme d'un autre. En effet, lorsque les éléments constituant la première, virulence et dose massive, prédominent au contact d'un organisme en faible état de défense, les lésions sont caractérisées par la réaction exsudative; lorsque, au contraire, les moyens de défense de l'organisme prennent le dessus grâce à l'absence de virulence, la dose moindre et surtout et en premier lieu grâce à un état de résistance spécifique augmentée, ce sont les réactions à type folliculaire qui prédominent.

Il est un élément dont jusqu'à présent nous n'avons pas fait mention, quoique dans l'établissement de nos expériences nous en ayons tenu compte, c'est l'hypersensibilité. En effet, c'est à cette fin que nous avons, comme on peut le voir dans les protocoles de nos expériences, étudié la réaction à la réinfection sur deux catégories différentes de lapins vaccinés un mois avant la réinfection avec des bacilles virulents, les autres six mois plus tôt. Si nous avons établi ces deux séries d'expériences, c'est que nous nous attendions, *a priori*, à voir se comporter différemment ces deux catégories d'animaux, et justement en tenant compte du facteur hypersensibilité. En effet, les recherches de l'un de nous [20], sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose chez le cobaye, nous avaient montré que, chez cet animal, le caractère de la réaction locale à la réinfection intradermique était différent selon que la réaction avait lieu précocement, première semaine jusqu'à un mois, ou tardivement, à partir du sixième mois et au delà. Pour le premier cas, réinfection précoce, la réaction locale était caractérisée par une accélération croissante de sa production, le délai de son apparition diminuant de 10 à 11 jours, pour l'animal neuf, jusqu'à 1 à 2 jours pour l'animal

réinfecté après un mois. Au contraire, chez les animaux réinfectés tardivement, l'apparition du nodule et de l'abcès au lieu de réinfection ne se produisent qu'après un délai beaucoup plus long, pouvant aller jusqu'à 72 à 84 jours. C'était ce que nous avions appelé « la réaction retardée » à la réinfection.

Nous avions conclu de ces expériences que, tandis que dans les premières semaines qui suivent la primo-infection, les phénomènes d'hypersensibilité se manifestaient avec une intensité croissante, traduite par l'apparition de plus en plus précoce de la lésion, cet élément allait au contraire en s'atténuant avec le temps, jusqu'à un moment où seules les réactions d'immunité proprement dites, de résistance, se manifestaient encore, se traduisant par le retard considérable dans l'apparition de la lésion de réinfection.

Nous nous attendions donc, dans nos expériences, à trouver chez les animaux réinfectés précocement, après un mois, une précocité et intensité plus grande des phénomènes exsudatifs, une réaction aiguë, caractéristique de l'état d'hypersensibilité. Or, comme nous avons vu, il n'en a été rien, la réaction folliculaire, productive, étant tout aussi intense et précoce que chez les animaux réinfectés après six mois. Tout au plus avons-nous pu constater chez ces derniers, pendant les premiers jours, une moindre extension et un caractère moins diffus du processus d'alvéolite, précédant l'apparition des nodules, mais cette différence ne nous a pas semblé assez importante pour considérer la manière de réagir de ces animaux comme fondamentalement distincte de celle des animaux réinfectés précocement.

Il faut croire qu'il y a là une différence de sensibilité propre à chaque espèce animale, ce qui d'ailleurs n'est pas pour nous surprendre. Le lapin est, ainsi que nous le savions, moins apte aux réactions d'hypersensibilité, comme le prouve d'ailleurs aussi sa réactivité assez faible à la tuberculine. Il est possible, même fort probable, que chez le cobaye nous aurions eu des résultats différents. Nous en trouvons d'ailleurs une indication dans un travail récent de Schilling [20] qui, étudiant les réactions histologiques déterminées par l'inoculation intraveineuse de bacilles virulents chez le cobaye neuf, en comparaison à celles déterminées chez le cobaye préalablement vacciné par le B. C. G., trouve chez ce dernier une réaction alvéolaire exsudative beaucoup plus précoce et plus intense. Des recherches ultérieures faites sur le cobaye et qui feront l'objet d'un prochain mémoire nous éclairerons sur ce point.

Il faut aussi tenir compte, avant de généraliser, du fait que, dans nos expériences, il s'agit d'animaux vaccinés avec le B. C. G., donc inoculés avec un bacille ne déterminant pas une infection progressive, ce qui certainement donne lieu aussi à des conditions différentes quant à l'intensité des phénomènes d'hypersensibilité, qui même chez le lapin pourrait se manifester d'une toute autre manière au cas où il s'agirait d'une primo-infection à bacilles virulents.

Si, tout en faisant ces réserves, il nous était permis d'avancer quelques suppositions, il est fort probable qu'à ce point de vue il y aurait, chez l'homme, plus d'analogie avec la manière de réagir du cobaye. En effet, la sensibilité à la tuberculine est très grande, et en même temps il existe chez lui, ainsi que la clinique et l'anatomie pathologique le prouvent, dans les premiers temps qui suivent l'infection tuberculeuse, une grande tendance aux fortes réactions exsudatives. C'est ce qui avait fait ranger, dans la classification de Ranke, cette période de la première enfance dans la seconde phase, d'hypersensibilité ou d'anaphylaxie. Il est aussi fort probable que la tendance à la réaction productive soit une caractéristique des infections anciennes correspondant, dans la classification de Ranke, à la troisième phase, de résistance ou d'immunité relative.

Les données expérimentales de notre travail nous semblent venir à l'appui de l'interprétation qu'une partie des auteurs, que nous citons dans notre introduction, donnent aux aspects cliniques et anatomiques de la granulie. Comme nous l'avons vu, pour un bon nombre de ceux-ci (Huebschmann, Rist, Delarue, etc., etc.), il y a une relation assez constante entre le caractère anatomique des lésions et l'évolution clinique de la granulie. Les formes à prédominance de lésions folliculaires sont généralement celles dont l'évolution est chronique; c'est à ce type de lésions qu'on attribue aussi les granulies froides et curables. Au contraire, dans la majorité des granulies à évolution aiguë, ce seraient les lésions à type de tubercule miliaire, exsudatives, qui prédomineraient, ainsi que dans les granulies précoces de l'enfance.

Dans nos expériences, non seulement la réaction à type folliculaire prédominait chez les animaux préalablement vaccinés, donc doués d'un certain degré d'immunité, mais à cet état correspondait une réelle résistance se traduisant par un retard dans l'évolution des lésions, ainsi que de la nécrose et caséification, et leur moindre extension. Nous avons même eu l'impression que,

pour une partie des lésions, il pourrait s'agir d'une résorption, étant donné que les granulations assez nombreuses que, vers le début, on voyait à la surface des poumons, ne se rencontraient plus chez les animaux sacrifiés plus tard. Chez ceux-ci, au lieu des grandes lésions confluentes envahissant d'importants territoires du poumon que l'on rencontrait chez les témoins, on voyait des lésions, d'assez grandes dimensions il est vrai, mais parfaitement bien circonscrites et en petit nombre, deux à trois par poumon.

Comme chez l'homme, la granulie n'est pratiquement jamais primitive, mais survient toujours chez un individu porteur d'un foyer tuberculeux de date plus ou moins récente, de dimensions et extension variables; comme, d'autre part, les irruptions massives de bacilles dans la circulation sont plutôt exceptionnelles, et que pour la virulence on n'a pas pu, jusqu'à ce jour, lui attribuer de trop grandes variations, il faut admettre que c'est le facteur terrain et particulièrement, conçu comme état de résistance spécifique, qui est l'élément déterminant le plus important des différents aspects des lésions rencontrées dans la granulie. Mais comme l'immunité en général, et dans la tuberculose en particulier, n'est que relative, il se peut que chez un même individu, selon qu'en un endroit, par les hasards de la circulation et les différences de structures anatomiques, les bacilles retenus soient en plus ou moins grand nombre, les réactions diffèrent d'un point à l'autre, et cela dans un même organe, sans parler de la différence de réaction de certains organes, comme le foie par exemple, dont nous avons déjà parlé en comparaison au poumon. Il est certain aussi que, selon leur succession dans le temps, les lésions revêtent un aspect différent, car l'état d'immunité lui-même n'étant pas fixe et immuable peut subir pendant ce temps des variations dans un sens ou un autre, peut augmenter ou fléchir. Enfin, si l'on tient compte aussi des phénomènes d'hypersensibilité si intimement associés à l'immunité, surtout dans la tuberculose, et qui eux aussi peuvent subir des fluctuations pendant l'évolution de l'infection, il est aisément explicable pourquoi dans le même cas on peut rencontrer une grande diversité de lésions.

CONCLUSIONS

1. L'inoculation par voie intraveineuse de bacilles tuberculeux virulents détermine, chez le lapin, des lésions disséminées qui, pour le poumon, ont comme point de localisation l'alvéole, aussi

bien que le tissu interstitiel, la première de ces localisations étant de beaucoup la plus importante.

2. Chez l'animal neuf, quelle que fût la dose inoculée, la réaction primitive est une réaction inflammatoire aiguë, exsudative; exceptionnellement seulement, on aperçoit dès les premiers jours des formations folliculaires. Dans les alvéoles, cette réaction prend l'aspect d'une alvéolite, à poly et mononucléaires, grandes cellules épithélioïdes et lymphocytes.

3. Les lésions ainsi constituées, qui par accolement de plusieurs alvéoles constituent des tubercules miliaires, peuvent suivre leur évolution spécifique jusqu'à la nécrose et caséification, sans que, jusqu'à ce moment, apparaissent dans le poumon des formations folliculaires.

4. Les formations folliculaires, giganto-cellulaires, sont pour la plupart des lésions secondaires. Elles apparaissent soit à la périphérie des tubercules, à un moment où ceux-ci, souvent, sont déjà arrivés à la phase de nécrose et caséification, soit comme point de départ de nouvelles formations folliculaires d'emblée, que nous considérons comme secondaires et dues à de nouvelles disséminations de bacilles dans le poumon.

5. Ainsi qu'on peut le constater dans les lésions folliculaires récentes isolées, et mieux encore pour les nombreuses cellules géantes qui apparaissent à la périphérie des tubercules constitués par des foyers d'alvéolite, la localisation des formations folliculaires n'est pas liée à la présence du tissu interstitiel, mais peut avoir lieu tout aussi bien en plein alvéole. Elle n'est donc pas caractéristique pour un substratum anatomique, mais plutôt pour une certaine manière de réagir de l'organisme.

6. Chez le lapin préalablement vacciné avec un bacille atténué, le B. C. G., par exemple, la réinfection intraveineuse avec des bacilles virulents, précoce (après un mois) ou tardive (six mois), détermine des lésions qui, très tôt, presque dès le début, prennent un caractère folliculaire avec cellules géantes typiques.

7. De tous les facteurs auxquels peut être attribué un rôle déterminant dans la favorisation de la réaction folliculaire, c'est l'état d'allergie le degré d'immunité de l'organisme qui nous semble être le plus important, soit que cette immunité fût obtenue par une vaccination préalable, soit qu'elle fût le fait de l'immunisation de l'organisme au cours de l'évolution de l'infection même (réaction folliculaire tardive, secondaire).

8. De nos expériences, nous n'avons pas pu conclure à une différence trop importante entre le mode de réaction de l'animal

à la réinfection précoce (après un mois), en comparaison à sa réaction vis-à-vis d'une réinfection tardive (après six mois). Dans les deux cas, les réactions ont été pareilles, quant à la précocité et l'intensité du processus folliculaire, avec tout au plus une manifestation plus modérée des réactions exsudatives précoces chez les animaux réinfectés tardivement. Il se peut que ces conditions soient cependant particulières à l'espèce animale, car des expériences, d'un autre genre il est vrai (réinfection intradermiques), pratiquées, celles-ci sur le cobaye, nous avaient permis de conclure que, chez cet animal, les manifestations de l'hypersensibilité étaient beaucoup plus prononcées dans les réinfections précoces, au contraire des réinfections tardives dans lesquelles les manifestations de l'immunité prenaient le dessus. En tenant compte de ces faits, il est à supposer que chez certaines espèces animales le facteur d'hypersensibilité, favorisant les réactions exsudatives, puisse dans certaines conditions intervenir pour modifier dans un sens ou un autre le caractère de la réaction. Nous avons plus haut exposé les considérations qui nous faisaient supposer que chez l'homme, ainsi que chez le cobaye, et cela surtout lorsqu'il s'agit d'une primo-infection à bacilles virulents, il y aurait lieu d'attribuer à ce facteur une plus grande importance qu'il n'en ressort de nos expériences faites sur le lapin sensibilisé avec des bacilles atténués.

9. Des autres facteurs : dose, virulence, structure de l'organe intéressé, dont nous avons discuté l'importance, c'est encore le dernier qui pourrait passer pour le plus important, étant cependant lui-même subordonné au facteur allergique. En effet, pour un même organe, le foie par exemple, nous avons pu constater que la tendance à la réaction folliculaire, plus intense et précoce ici que pour le poumon, acquiert cependant une importance infiniment plus grande, lorsqu'il s'agit d'un animal en état d'allergie.

10. Les enseignements et indications tirées de nos expériences corroborent le point de vue des auteurs qui voient, dans la lésion tuberculeuse, un processus inflammatoire débutant par une réaction exsudative pour aboutir soit à la caséification, soit à la cicatrisation dont la réaction folliculaire est une étape. Selon le rapport des forces entre l'agent pathogène (virulence et dose) et les forces de défense de l'organisme (résistance spécifique), en partie aussi selon la structure de l'organe, cette inflammation aboutit plus tôt ou plus tard au processus cicatriciel, à la réaction folliculaire. Souvent, cela se produit si tôt que la phase exsudative passe presque inaperçue et la réaction paraît folliculaire d'em-

blée; d'autres fois, le processus exsudatif aboutit à son terme final, la caséification, avant que l'organisme ait eu le temps d'ébaucher la moindre tendance à une défense efficace.

Pour ce qui est de la granulie, nous croyons que ce même rapport de forces fait qu'une bacillémie, comme on sait qu'il s'en produit souvent chez les tuberculeux, reste une simple bacillémie bactériologique, pour ainsi dire, sans symptômes, ou bien donne lieu à une typho-bacillose, une granulie froide, chronique, aiguë ou suraiguë asphyxiante, avec prédominance pour les premières des lésions folliculaires, surtout exsudatives pour les dernières. C'est aux différentes proportions dans lesquelles ces deux éléments sont représentés dans la constitution de ces lésions disséminées, mais par ailleurs identiques comme structure fondamentale à celles de toute autre tuberculose, qu'est due la grande variété d'aspects cliniques et anatomiques compris sous le terme de « granulie ».

BIBLIOGRAPHIE

1. Bezançon (F.) et Braun (P.) : « L'asphyxie tuberculeuse aiguë. » (*Paris médical*, 20 janvier 1923.)
   Id. : « Granulation miliaire et tubercule miliaire. » (*Revue de la Tuberculose*, t. IX, 1928, p. 429.)
2. Letulle (M.) et Bezançon (F.). : « Deux observations d'asphyxie tuberculeuse aiguë non consécutives à la granulie. » (*Revue de la Tuberculose*, t. III, 1922, p, 184.)
   Id. : « La granulation tuberculeuse et le tubercule miliaire des poumons. » (*Presse médicale*, 23 septembre 1922.)
3. Letulle (M.) : « La tuberculose pleuropulmonaire. » (*Revue de la Tuberculose*, t. VIII, 1927, p. 1.)
4. Rist (E.), Rolland, Jacob et Hautefeuille : « Contribution à l'étude anatomo-clinique de la tuberculose miliaire. » (*Revue de la Tuberculose*, t. VIII, 1927, p. 625.)
5. Borrel (A.) : « Tuberculose pulmonaire expérimentale. » (*Ann. Inst. Pasteur*, v. 7, 1893, p. 593.)
6. Hérard (H.), Cornil (V.) et Hanot (V.) : *La phtisie pulmonaire*. Paris, F. Alcan, 1888.
7. Delarue (J.) : *Les formes anatomo-cliniques des « granulies » pulmonaires*. Paris, Masson, 1930.
8. Huebschmann et Arnold : « Beiträge zur pathologischen Anatomie der Miliartuberkulose. » (*Virchow's Archiv.*, v. 249, 1924, p. 165.)
9. Huebschmann : *Pathologische Anatomie der Tuberkulose*. Berlin, J. Springer, 1928.
10. Pagel (W.) : *Lungentuberkulose in* : *Henke u. Lubarsch., Handbuch der speziellen path. Anatomie*, v. III/2, p. 139. Berlin, J. Springer, 1930.
    Id. : « *Die allgemeinen pathomorphologischen Grundlagen der Tuberkulose*. Berlin, J. Springer, 1927.
11. Miller (S.-W.) : « The reticulum of the Lung. » (*Americ. Rev. of Tuberculosis*, 1923, p. 141; 1926. p. 360.)
12. Doubrow (S.) et Froment (R.) : « Du rôle des facteurs locaux dans l'évo-

lution de la tuberculose pulmonaire. » (*Journ. méd. de Lyon*, 1930, p. 277.)

13. Opitz (H.) et Sheriff : « Virulenz u. Typenbestimmung von Bazillen Stämmen Kindlicher Tuberkulose. » (*Beiträge z. Klinik der Tuberkulose*, v. 72, 1929, p. 523.)
14. Lange (B.) : « Zur Frage der Virulenz der bei menschlichen u. tierischer Tuberkulose vorkommenden Tuberkelbazillen. » (*Ztschrft. f. Tuberkulose*, v. 57, 1930, pp. 129 et 209.)
15. Meyenbourg (de) : « Anatomie pathologique de la tuberculose pulmonaire. » (*Annales d'Anat. pathologique*, v. 3, 1926, p. 917.)
16. Maximow (Al.) : « Etude comparative des cultures de tissus inoculés soit avec le bacille tuberculeux du type bovin, soit avec le bacille B. C. G. de Calmette et Guérin. » (*Ann. Inst. Pasteur*, v. 42, 1928, p. 225.)
17. Bernard (L.), Desbuquois et Thayer : « Application de la recherche des éléments bacillaires sans lésions caséeuses d'inoculation à la question de la bacillémie des tuberculeux. » (*Revue de la Tuberculose*, v. 10, 1929, p. 536.)

    Bernard (L.) et Desbuquois : « Fréquence de la bacillémie chez les tuberculeuses en période menstruelle. » (*Revue de la Tuberculose*, v. 10, 1929, p. 530.)
18. Löwenstein (E.) : « Die klinische Bedeutung der Tuberkelbazillämie. » (*Münch. med. Wochschft.*, v. 77, 1930, p. 1662.)
19. Opie (E.) et Aronson (J.) : « Tubercle bacilli in latent tuberculous lesions and in lung tissue without tuberculous lesions. » (*Arch. f. Pathol. and Laborat. med.*, v. 4, 1927, p. 1.)
20. Nasta (M.) : « Recherches sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose. » (*Arch. roum. de Pathol. expér. et Microbiologie*, t. I, 1928, p. 541.)

    Id. : « Une réaction particulière de la réinfection tuberculeuse. La réaction retardée. » (*C. R. Soc. Biologie*, v. 99, 1928, p. 1364.)

    Id. : « Réaction retardée à la réinfection chez le cobaye vacciné par le bacille bilié. » (*Ibid.*, v. 100, 1929, p. 916.)
21. Schilling (C.) : « Pathologisch-histologische Studien in bezug auf den Calmette-schen Tuberkelbazillus (B. C. G.). » (*Virchow's Archiv.*, v. 278, 1930, p. 462.)

LÉGENDE DES FIGURES

Fig. 1, 2, 3, 4. — Sections du poumon d'un lapin vacciné avec 1 centigramme de B. C. G. et réinfecté un mois plus tard, par voie intraveineuse, avec 1 milligramme de bacilles virulents (bovine Vallée), sacrifié après 25 jours.

Fig. 1. — Lésion folliculaire interstitielle ; cellules géantes dans les septums interalvéolaires.

Fig. 2. — Lésion folliculaire intraalvéolaire. Alvéoles remplis de cellules géantes et syncitiums multinucléés.

Fig. 3. — Foyer d'alvéolite entouré d'alvéoles remplis de cellules géantes.

Fig. 4. — Foyer d'alvéolite avec début de nécrose au centre ; à la périphérie, alvéoles remplis de cellules épithélioïdes, isolées ou groupées en cellules géantes.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
Tome III. — N° 4. — 1930.

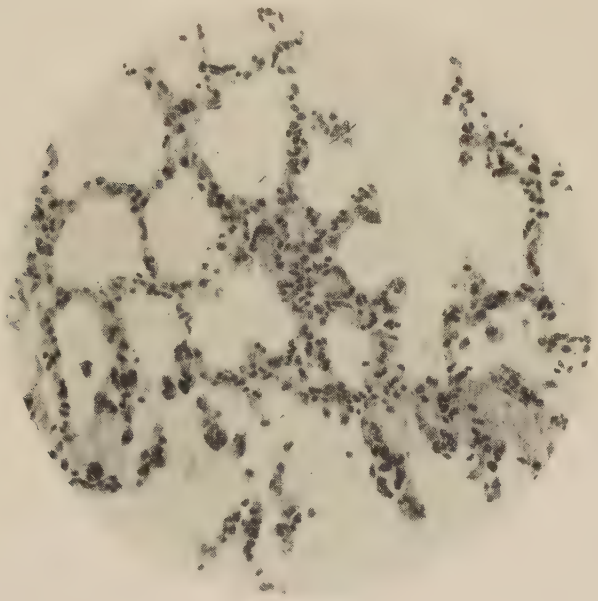


FIG. 1.

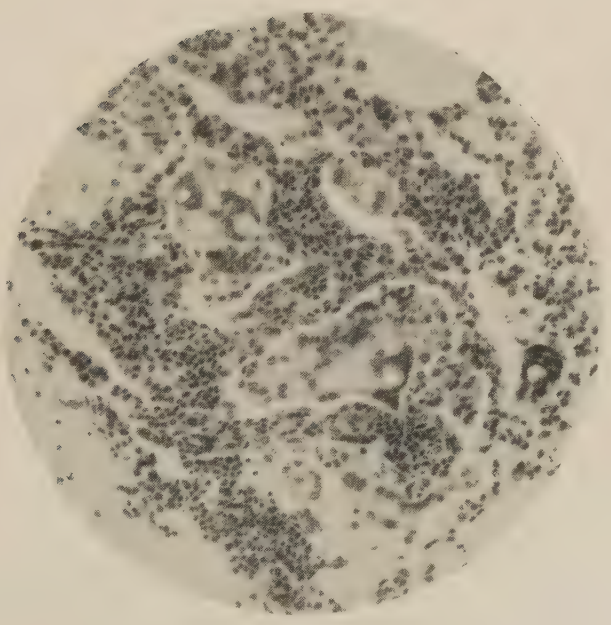


FIG. 2.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

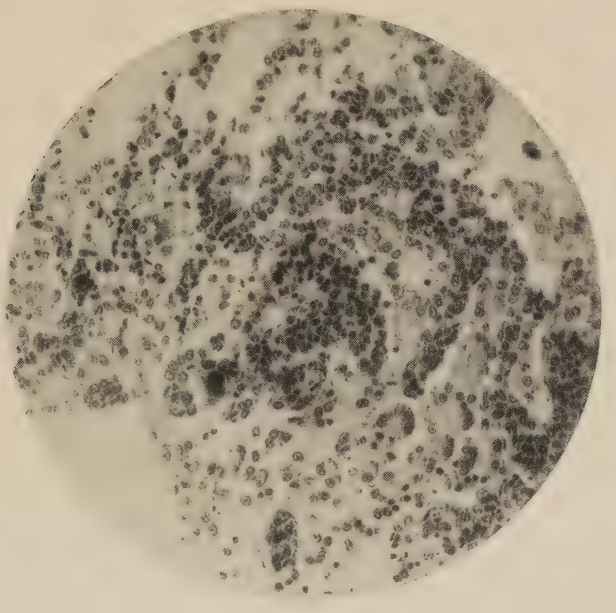


FIG. 3.

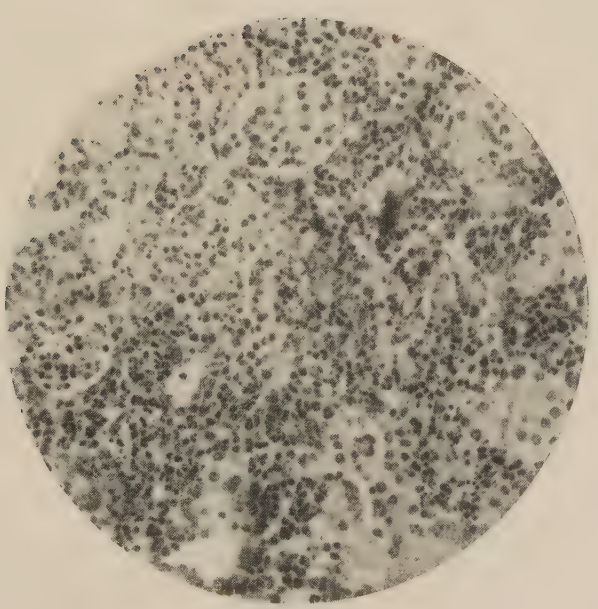


FIG. 4.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

POSSIBILITÉ D'INFECTION PAR LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN DANS LE TYPHUS EXANTHÉMATIQUE

par

I. GHEORGHIU

(Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine de Jassy)

Les travaux ayant pour but l'étude expérimentale de la transmission du typhus exanthématique par inoculation de liquide céphalo-rachidien, à des animaux de laboratoire, sont peu nombreux. En général, les résultats obtenus par les différents expérimentateurs ont été négatifs.

Nous nous sommes proposé de reprendre des recherches analogues en nous servant du cobaye comme animal d'expérience. La technique employée a été la suivante :

Le liquide céphalo-rachidien, prélevé chez des malades atteints de typhus exanthématique, était inoculé dans le péritoine des cobayes à raison de 5 centicubes par animal. On constatait, immédiatement après l'inoculation, une baisse de la température au-dessous de la normale. L'équilibre se rétablissait après quelques heures et l'animal ne manifestait plus aucun trouble pendant les cinq à six jours qui suivaient. Mais, après une incubation variant de sept à quatorze jours, on constatait chez quelques-uns des cobayes inoculés une ascension thermique dont la durée était de deux à trois jours. Tandis qu'une partie des animaux malades se remettaient ensuite, d'autres maigrissaient et mouraient en présentant des phénomènes de cachexie profonde.

Des essais de passages en série, par inoculation intrapéritonéale d'émulsion de cerveau (1/10 de centicube) provenant de cobayes en pleine réaction fébrile, ont donné 12 résultats positifs sur 30 essais.

Arch. roum. de path. expér., t. III, n° 4, décembre 1930.

Nous avons réussi à réaliser de la sorte quatre à six passages en série en partant d'une même source de virus.

Des quantités moindres de liquide céphalo-rachidien (0 ctc. 5 à 2 centicubes) inoculées dans le péritoine, ou directement dans le cerveau (0 ctc. 5), sont complètement dépourvues d'activité infectante.

Les résultats sont de même négatifs si l'on inocule, dans le péritoine des cobayes, 5 centicubes de liquide céphalo-rachidien normal.

A l'autopsie des cobayes morts en pleine ascension thermique ou des cobayes sacrifiés pour les passages en série, on observe une très forte hyperémie de tous les organes. La rate et le foie augmentent de volume, les reins sont très congestionnés ; quant au système nerveux central, il présente une forte hyperémie des méninges avec œdème et hypèrémie du cerveau.

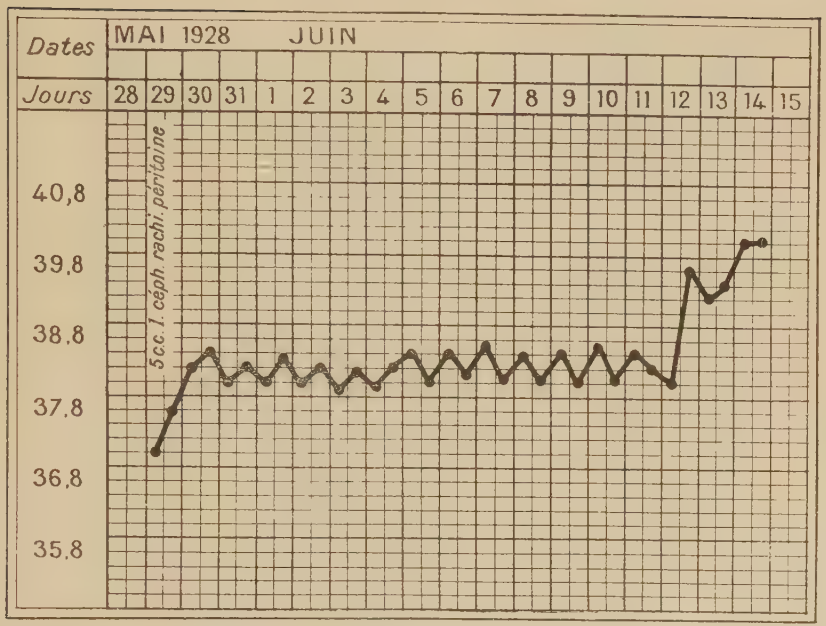
L'examen direct des organes au point de vue de la présence des germes a été complètement négatif.

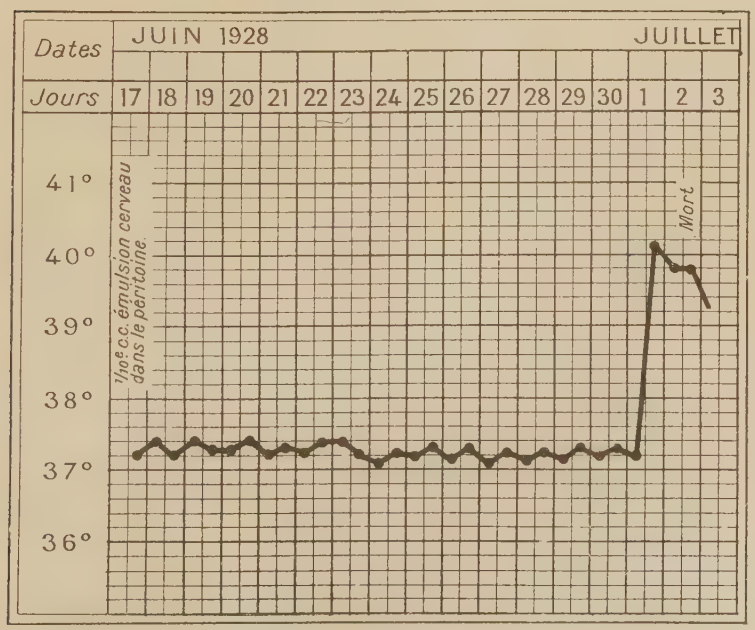
Des ensemencements des organes, de même que du système nerveux central et du cœur, sont restés stériles.

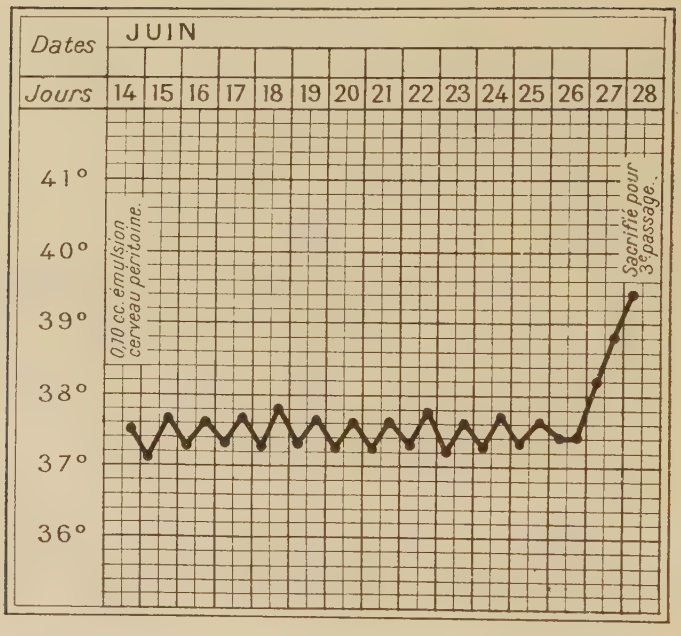
Les coupes du cerveau fixées dans le liquide de Bouin ou dans le liquide de Müller, colorées à l'hémalaun-éosine et au Giemsa, montrent une dilatation des vaisseaux qui sont remplis de globules rouges et, en partie, entourés par un manchon de cellules rondes et parfois associés à des hémorragies. A côté de ces lésions, on trouve quelquefois dans la substance cérébrale de véritables nodules inflammatoires formés de cellules de nature leucocytaire ayant parfois au centre des restes de vaisseaux disséminés d'une manière irrégulière.

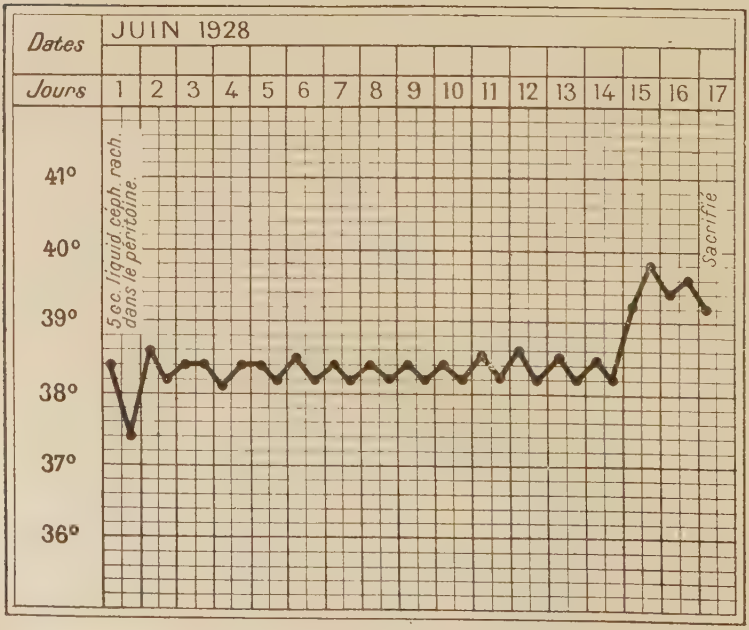
Nous n'avons pas observé des formes microbiennes pas plus que des formes parasitaires.

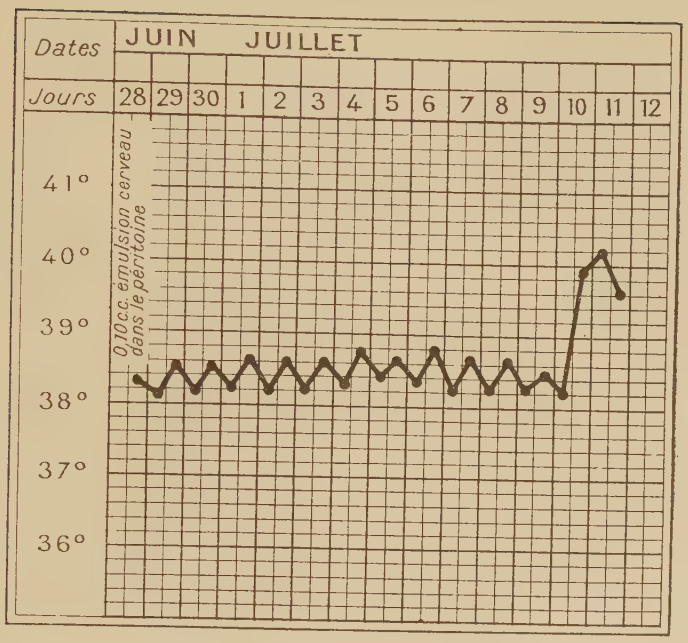
Voici quelques courbes thermiques des animaux ayant contracté la maladie expérimentale, de même que celles des animaux avec des passages :

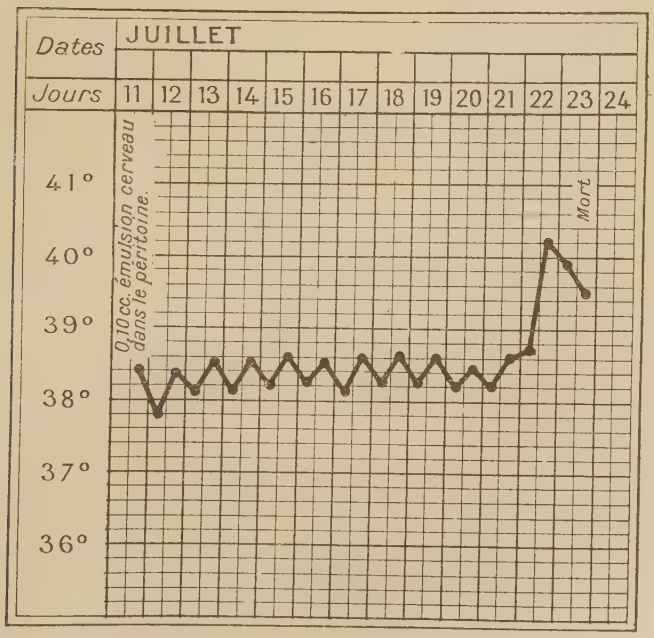

Dates
MAI 1928
JUIN
Jours
28 29 30 31 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
40,8
39,8
38,8
37,8
36,8
35,8
5 c.c. l. céph. rachi. péritoine


Dates
JUIN 1928
JUILLET
Jours
17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 1 2 3
41°
40°
39°
38°
37°
36°
1/10e c.c. émulsion cerveau dans le péritoine
Mort


Dates
JUIN
Jours
14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28
41°
40°
39°
38°
37°
36°
0,10 cc. émulsion cerveau péritoine.
Sacrifié pour 3e passage.


Dates
JUIN 1928
Jours
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
41°
40°
39°
38°
37°
36°
5 cc. liquid. céph. rach. dans le péritoine.
Sacrifié


Dates
JUIN
JUILLET
Jours
28 29 30 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12
41°
40°
39°
38°
37°
36°
0,10 cc. émulsion cerveau dans le péritoine

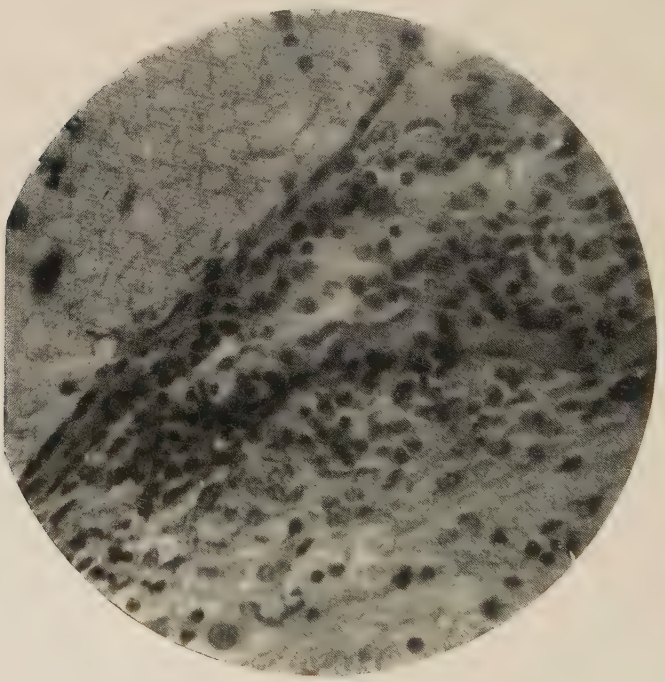

Dates
JUILLET
Jours
11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
41°
40°
39°
38°
37°
36°
0,10 cc. émulsion cerveau dans le péritoine.
Mort

CONCLUSIONS

On obtient, par l'inoculation intrapéritonéale de grandes quantités (5 centicubes) de liquide céphalo-rachidien des malades de typhus exanthématique, une maladie en tout semblable au typhus exanthématique expérimental du cobaye et transmissible en série. A l'autopsie des animaux, on trouve des lésions histologiques caractéristiques du typhus expérimental des cobayes.

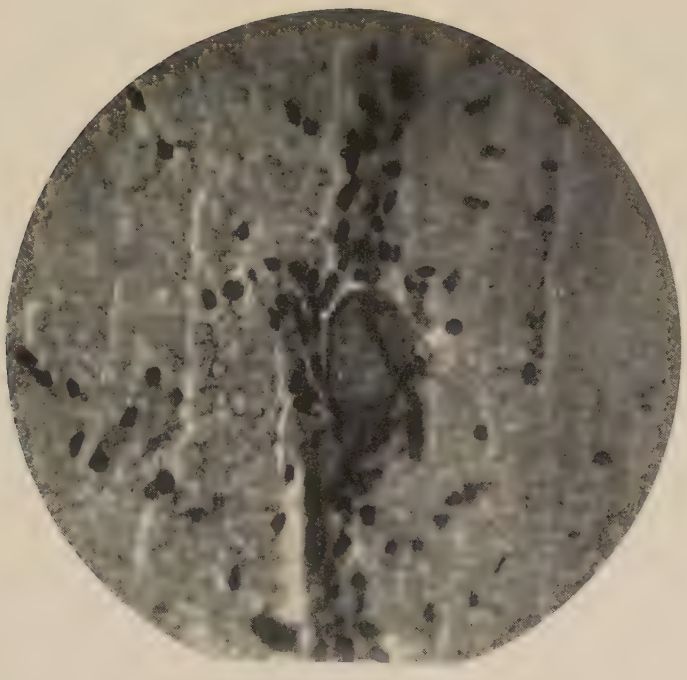
ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
Tome III. — N° 4. — 1930.

MICROPHOTOGRAPHIES DES LÉSIONS OBSERVÉES DANS LES COUPES DU CERVEAU DES ANIMAUX MALADES

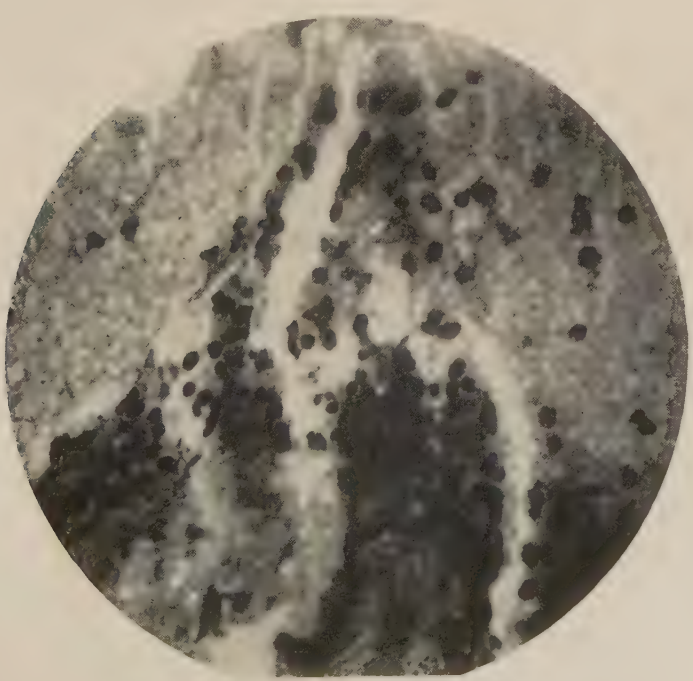


Coupe de cerveau.
Infiltration massive périvasculaire.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS



Coupe de cerveau. On voit sur la coupe un petit vaisseau entouré de cellules d'infiltration périvasculaire.



Coupe de cerveau. Infiltration périvasculaire. Lésions d'artérite.

L'ACTION D'UN SÉRUM ANTICELLULAIRE SUR LA CROISSANCE DES TISSUS *IN VITRO*

par

E.-C. CRACIUN et A. SORESCU

(Travail de l'Institut clinico-médical B. Hopital Filantropia. Directeur : Professeur D. Danielopolu)

L'étude des sérums anticellulaires était à l'ordre du jour, il y a une trentaine d'années environ (1). En dehors de l'importance purement théorique de cette question, on a cherché d'y trouver l'explication de plusieurs phénomènes pathologiques. Certaines lésions, par exemple, ont été attribuées à la production des auto-cytolysines, à la suite d'une légère altération des tissus correspondants avec modification simultanée de leurs protéines, lesquelles acquièrent de cette manière une valeur antigénique. Les auto-cytolysines ainsi apparues sont capables d'exagérer cette lésion jusqu'à la production de lésions indélébiles. Théohari et A. Babes ont étudié l'action d'un sérum gastro-toxique. H. Brulé a pu obtenir des lésions hépatiques très nettes dues à l'action d'un sérum hépatotoxique. Dernièrement encore, Wittebsky a essayé d'y trouver l'explication de l'hémoglobinurie paroxystique ou des maladies métasyphilitiques. Dans ce dernier cas, le cerveau contient des récepteurs propres et spécifiques de nature lipoïdique, lesquels engendrent des anticorps spécifiques, produisant des lésions cérébrales.

D'autres auteurs ont montré que les sérums anticellulaires ont une certaine importance au point de vue de la thérapeutique.

Rappelons à ce sujet que les sérums cytotoxiques peuvent avoir, à petites doses, une influence stimulante *in vivo*. Cantacuzène a

(1) Cette étude a mis en évidence un fait extrêmement important pour la biologie cellulaire : les différents tissus d'un animal ne constituent pas autant d'antigènes différents. Ces tissus forment plutôt un seul groupe, avec seulement des différences quantitatives.

démontré, par exemple, que le sérum hémolytique peut activer l'hématopoïèse, tandis que Metchnikoff et Besredka ont observé que les leucotoxines exercent parfois une action favorable sur l'évolution et la résorption des lésions lépreuses.

En ce qui concerne le cancer, les résultats ont été moins encourageants. On obtient une immunité anticancéreuse, mais ce phénomène n'est nullement spécifique, ni comme unité antigénique ni comme mode d'action. Ce qui revient à dire que des tissus normaux peuvent, jusqu'à un certain point, immuniser contre le cancer, et que le sérum antitumeur peut agir également sur des cellules normales. On pourrait citer, à ce sujet, une longue série de travaux, à partir de Richet et Héricourt, dont les recherches ont été continuées pour le cancer humain ou animal, spontané ou expérimental, par von Leyden et Blumenthal, Ehrlich et Appolant, Caspari, Haaland, Bashford, Murray, Moreschi, Schone, Bridré et Lumsden.

L'avènement de la méthode des cultures *in vitro* a donné un certain renouveau à ces recherches. On avait ainsi la possibilité d'innoculer des éléments en parfait état de vitalité. Le grand avantage que présente cette méthode se rapporte surtout à la possibilité d'étudier les effets cytotoxiques sur des éléments vivants et d'en démontrer l'action *ante oculos*. Les études faites par Lumsden, à cet égard, nous paraissent être particulièrement démonstratives. Nous y reviendrons d'une manière plus détaillée plus tard, dans une étude relative aux modifications morphologiques subies par les cellules cultivées dans les milieux cytotoxiques.

Nous avons cru intéressant d'étudier l'effet que peut exercer, sur des cultures de tissus, un sérum antimyocardique, dont le mode de préparation et les propriétés sérologiques ont été déjà indiquées par ailleurs.

MÉTHODE

Pour ces recherches, nous avons appliqué ce que l'on pourrait appeler le *principe de la croissance résiduelle*. Le même principe a été appliqué par Craciun et Mac Cordock, lesquels ont pu démontrer ainsi que le plasma des lapins badigeonnés au goudron peut contenir des substances excito-formatrices pour les cultures de reins de lapereaux ayant un certain poids. La différence entre les cultures en plasma normal, par rapport au plasma

des animaux traités par le goudron, était de l'ordre de 30 à 100 % faveur du plasma goudronné. Le milieu de culture était composé de plasma pur et de Ringer-Locke à parties égales. Dans ces cas, le milieu de culture ne contenant pas de tréphones, les tissus sont avisés, pour leur croissance *in vitro,* soit à leur contenu en tréphones, soit à ce que l'on désigne, depuis Carrel, sous le nom d'énergie de croissance résiduelle des tissus. Cette dernière notion est basée sur l'observation que le même tissu prolifère d'autant plus que son ontogénèse est moins avancée. Il s'agit donc de trouver, *pour un certain plasma,* à quel âge un certain tissu possède juste autant d'énergie résiduelle pour proliférer *in vitro,* en absence de toute addition voulue de tréphones.

Par conséquent, la méthode employée dans ces recherches consiste à comparer la croissance d'un myocarde, juste capable de prolifération dans un milieu du type Burrows, avec la prolifération du même tissu dans un milieu identique contenant, en plus, du sérum (actif) de lapin traité par plusieurs injections de myocarde frais de chien, d'après une méthode précédemment indiquée (Craciun et Soresco).

De toute nécessité, il faut éviter l'addition de suc embryonnaire à ces cultures. En effet, les tréphones, en excitant la croissance d'une manière plus ou moins forte, rendent difficile l'estimation de la croissance relative des deux groupes de cultures (avec et sans sérum actif). Et, d'autre part, l'addition de suc embryonnaire représente l'addition d'un nouvel élément en milieu de culture, élément dont il est nécessaire de mesurer l'action. Il en résulte que, pour ces recherches, il n'est pas convenable d'employer des cultures en milieu du type Carrel, composé, comme on le sait, de plasma de solution saline et d'extrait embryonnaire. Au contraire, le milieu Burrows (plasma et solution saline, sans suc embryonnaire) amène les cultures à un point critique, où leur prolifération peut encore se manifester tout juste, étant pratiquement supprimée, par contre, sous l'action d'un agent nocif, le sérum antimyocardique, en l'espèce. Le principe de la croissance résiduelle appliqué à des cultures en milieu Burrows représente une « méthode à zéro », le sérum antimyocardique réduisant à zéro la croissance d'un certain myocarde, tandis que les cultures témoins sont plus ou moins actives. Cela permet d'atteindre le maximum de sensibilité de la méthode. Au contraire, en milieu Carrel, comme il a été dit plus haut, il ne s'agissait plus que d'une différence quantitative entre le témoin et l'expérience principale, et l'estimation de cette différence est particulièrement dif-

ficile dans le cas des tissus musculaires dont on ne peut pas encore obtenir des souches pures, à croissance régulière et connue.

Ceci nous explique également pourquoi nous avons été obligés d'apprécier la croissance plus ou moins étendue de tissus fraîchement mis en culture, ce qui expose parfois à avoir des cultures très inégales comme prolifération. Les études classiques de Carrel et d'Ebeling ont montré que les tissus n'atteignent une courbe régulière de croissance qu'après plusieurs passages *in vitro*. Ces auteurs ont souligné toute l'importance pratique que doit avoir l'emploi des souches pures, à prolifération fixe et connue, pour les expériences ayant trait aux substances excito-formatrices ou inhibitrices, par rapport à la multiplication cellulaire *in vitro*. Ces remarques sont applicables évidemment aux tissus dont on peut obtenir des cultures pures, comme les fibroblastes (Carrel, Ebeling), le monocyte (Carrel et Ebeling), l'épithélium iridien (Fischer), celui de la thyroïde (Ebeling), le foie (Friedheim). Par contre, l'accord ne s'est pas encore fait sur les éléments qui constituent, après beaucoup de passages, les cultures du myocarde. Tout en étant très fréquemment employé, ce tissu n'est pas suffisamment bien connu aujourd'hui au point de son évolution *in vitro*. Tandis que, d'après Carrel, Burrows et Lewis, il n'y a que les fibroblastes qui survivent à la longue, au contraire, d'après Lévi et Olivo, ces fibroblastes ne seraient que des cellules musculaires ayant subi une profonde modification morphologique et biologique, à la suite de leur culture *in vitro*. Il s'agirait, d'accord avec Champy, d'une dédifférenciation de la fibre myocardique, c'est-à-dire d'un retour de cet élément à l'état de cellule conjonctive non différenciée, prémusculaire. Il paraît pourtant possible d'obtenir des cultures pures d'éléments musculaires, d'après Olivo. On ne sait pas encore s'il est possible d'en obtenir à partir du myocarde embryonnaire de chien.

Il nous a paru donc préférable d'étudier le myocarde fraîchement mis en culture et d'apprécier, après quarante-huit heures, la présence et l'étendue de la zone d'invasion. Rappelons que Levaditi propose de distinguer, pour les éléments de la zone d'invasion, entre leur origine purement migratrice et leur production par voie de prolifération cellulaire proprement dite. Pour la rate, par exemple, il est particulièrement difficile d'apprécier la quote-part qui revient à chacun de ces deux phénomènes dans la genèse de la zone d'invasion. Au contraire, pour les autres organes, on est généralement d'accord d'attribuer toutes les cellules, n'étant pas des leucocytes,

comme dues à une hyperplasie cellulaire, malgré le fait que beaucoup de ces éléments peuvent émigrer tout simplement dans le milieu environnant, puisque toutes les cellules sont capables d'amiboïsme. Cette distinction est pourtant sans importance pratique pour l'étude des sérums anticellulaires *in vitro*. Emigration et division représentent deux fonctions actives, extrêmement labiles et ne s'exerçant que dans des conditions bien précises et très proches de l'ambiance physiologique normale de ces éléments *in vivo*, surtout pour les animaux supérieurs. Les sérums anticellulaires, comme il a été démontré précédemment par Lambert et Hanes, Lumsden, etc., agissent en vrais toxiques et paralysent à la fin ces deux fonctions cellulaires. Ce phénomène n'est plus apparent si on met en présence le tissu du sérum toxique dès le commencement.

Excepté pour les embryons de poulet, il est assez difficile de se procurer des embryons d'autres espèces ayant un certain âge. De ce fait, certaines séries de cultures ont été inutilisables soit par le manque de toute prolifération, même dans les contrôles (en absence du suc embryonnaire), soit au contraire du fait que toutes les cultures étaient plus ou moins actives, ce qui rend difficile et subjective l'estimation du taux de la croissance. Pour cette raison, plusieurs de nos séries ont été inutilisables et, d'autre part, le nombre des séries de cultures de myocarde embryonnaire de chien a été plus limité que nous l'aurions voulu.

Afin de rendre plus clairs les résultats de ces expériences, il vaut mieux employer les tissus d'un animal de même espèce que celui qui a fourni l'antigène. Il est vrai que les milieux de cultures hétérologues sont tout aussi bons que les milieux homologues, d'après Burrows, Lambert et Hanes, Carrel, Ingebrigsten, Erdmann, confirmés par de nombreux auteurs. Le fait est que l'on emploie couramment le plasma de poule comme milieu de culture pour des tissus de n'importe quelle provenance (voir aussi Krontowsky) ; seulement, Hadda et Rosenthal ont observé parfois des lésions cellulaires, lésions que ces auteurs attribuent à l'action de cytolysines contenues dans les milieux de culture hétérologues. A peu d'exception près (voir le tableau I), nous avons donc constamment employé, comme base du milieu de culture du plasma, du Tyrode contenant ou ne contenant pas de l'alexine fraîche de cobaye, du sérum actif de lapin ou du sérum indifférent d'un lapin (non immunisé) du même poids.

Enfin, les sérums anticellulaires posent la question de la non spécificité de leur action, ceci étant vrai à la fois pour leurs réac-

tions sérologiques (voir aussi : Craciun et Nicolesco) et pour leur influence sur les cultures de tissus (Lumsden). Il nous a paru nécessaire d'examiner l'action d'un sérum antimyocardique non seulement par rapport à un tissu homologue et homogène, c'est-à-dire sur le myocarde (embryonnaire) de chien, mais encore par rapport au myocarde d'autres espèces animales. Conséquemment, nous avons employé des embryons de poulet, de souris, de lapin et un embryon humain (de trois mois).

TECHNIQUE

D'accord avec les faits sus-indiqués, nous avons entrepris de cultiver

le myocarde embryonnaire du chien, du lapin, du poulet, de la souris et de l'homme,

dans un milieu composé de :

A) *plasma homologue,*

additionné à parties égales d'un mélange de :

B) *sérum frais de cobaye* (complément) ;

C) *sérum de lapin préparé* antimyocarde de chien ;

D) *solution de Tyrode ;*

dans les cultures de contrôle, l'un ou l'autre des éléments du milieu de cultures était remplacé soit par du Tyrode, soit par du

E) *sérum de lapin normal.*

Le plasma employé était hépariné à 1 : 15.000-20.000 d'après la méthode courante; les sérums étaient par contre fraîchement préparés, en faisant centrifuger le sang aussitôt coagulé, pour atténuer l'action toxique du sérum, autrement très marquée (Carrel).

Enfin les embryons étaient prélevés avec des soins d'asepsie rigoureuse, découpés, lavés pendant une demi-heure environ dans un bain salin et cultivés en goutte pendante sur des lamelles de verre dont l'alcali était soigneusement enlevé. Après quarante-huit heures à 38°, les cultures étaient pour la première fois sorties de l'étuve, examinées et abandonnées à la température de la chambre. Un deuxième examen était fait vingt-quatre heures

après. Dans ces conditions, l'activité des cultures de contrôle a été généralement assez constante [série III, IV, VI, VIII, XI et XIV].

Il est assez difficile de comparer entre elles l'activité de fragments d'inégale constitution et grandeur; pour cette raison, autant que pour d'autres raisons moins précises, trois de nos séries, montrant des contrôles par trop dissemblables comme taux de croissance, ont dû être abandonnées.

En ce qui concerne l'activité des cultures, nous avons marqué comme actives celles dont le fragment initial était entouré sur tout son pourtour par des cellules nouvellement formées, n'*étant pas des leucocytes* (excepté la rate). Lorsqu'il y a peu de cellules, celles-ci sont généralement des leucocytes avec très peu d'autres éléments; dans le cas, toutefois. où ces derniers prédominent, la culture est encore considérée comme active si les cellules sont groupées et ne présentent pas de lésions, sinon les cultures sont portées négatives.

RÉSULTATS OBTENUS

Le premier tableau résume les expériences faites avec tissus et plasma de chien. Sur 129 cultures, 56 ont été cultivées dans du plasma de chien dilué à parties égales par un mélange de solution Tyrode + sérum frais de cobaye + sérum actif d'un lapin préparé antimyocarde. Le reste des cultures a servi de contrôle pour mettre en évidence l'action des différents éléments du milieu de culture et surtout du sérum anticellulaire, ce dernier étant remplacé par le sérum d'un lapin normal.

Plus de la moitié de ces cultures (78) s'adressent au myocarde, mis ainsi en parallèle avec d'autres tissus de même origine. Les tissus provenaient de deux grossesses arrivées au mi-temps ou le dépassant de très peu; par contre, les deux premières séries ont été faites avec des embryons trop âgés ou trop jeunes; leurs résultats, n'étant pas conformes au principe sus-indiqué, n'ont pas été compris dans ce tableau.

Il résulte de ces expériences que les cultures de myocarde sont beaucoup moins actives (15-30 %) en présence du sérum actif qu'en son absence (80-90 %). Les sérums de cobaye et de lapin, participant au milieu de culture, n'ont pas d'influence notable (— 10 %). Cela paraît indiquer assez nettement que le sérum antimyocardique exerce une influence nocive sur les cultures homologues et homogènes.

TABLEAU I

Action du sérum anti-myocarde de chien sur :

a) Tissu homogène homologue **(cœur embryonnaire de chien) ;**

b) Tissus homogènes hétérologues **(foie, rate et rein d'embryon de chien.**

SÉRIE	TISSU	MILIEU DE CULTURE					NOMBRE total des cultures	NOMBRE des cultures actives	% des cultures actives
		Plasma homogène	Sol Tyrode	Complément	Sérum actif	Sérum normal			
III (a)	cœur	+++	+	+	+	ø	20	3	15 %
	»	+++	+	+	ø	+	10	8	80 %
	»	+++	++	+	ø	ø	10	8	80 %
	»	+++	+++	ø	ø	ø	10	9	90 %
	»	ø	+++	ø	ø	ø	8	1 (?)	—
IV	cœur	+++	+	+	+	ø	10	3	30 %
	»	+++	+	+	ø	+	10	9	90 %
(b)	rate	+++	+	+	+	ø	10	9	90 %
	»	+++	+	+	ø	+	8	8	100 %
	rein	+++	+	+	+	ø	9	7	78 %
	»	+++	+	+	ø	+	10	9	90 %
	foie	+++	+	+	+	ø	8	5	62 %
	»	+++	+	+	ø	+	6	4	66 %
							129		

Pour les autres tissus, la rate est à peine influencée, ce qui peut être dû non seulement à un manque d'action du sérum actif sur cet hétéro-antigène, mais encore à l'entraînement plus ou moins passif de beaucoup de cellules spléniques très peu fixées par leur stroma. Le sérum cytotoxique n'a pas d'influence aussi notable sur le rein (78-90 %), ou le foie (64 % en moyenne), que sur le cœur (15-30 % de bonnes cultures). Une certaine tendance inhibitrice se manifeste pourtant dans tous ces cas : la rate, le rein et le foie poussent mieux en l'absence du sérum antimyocardique (24 cultures) qu'en sa présence (27 cultures). Le sérum actif paraît donc exercer une certaine influence empêchant le développement *in*

vitro des tissus autres que le myocarde (hétérologues), mais provenant toujours du chien (homogènes).

Il convient de signaler, tout particulièrement, les altérations cellulaires apparaissant dans les cultures ayant montré une certaine prolifération malgré l'influence de l'antisérum; ce phénomène est plus apparent pour les cultures de myocarde. On y trouve de nombreuses cellules arrondies, inactives, tandis que, dans les cultures témoins, après le même laps de temps, ce sont les formes allongées qui prédominent de beaucoup. Ces éléments arrondis présentent parfois des vacuoles; mais la plupart du temps ce sont des éléments de taille plus grande que les normaux, ayant un aspect boursouflé et succulent. D'autres cellules assez peu fréquentes présentent par contre un contour vaguement épineux, ratatiné, rappelant les hématies en pomme d'épines. Ces lésions, paraissant indiquer un processus irréversible, sont évidemment l'expression d'un trouble d'hydratation de la cellule, attribuable à une fonction osmotique anormale de la membrane cellulaire. Quelques-unes de ces cultures ont été repiquées trois fois de suite, en même temps que des cultures-témoin à prolifération normale. Dès le deuxième passage, la croissance des cultures en milieu cytotoxique devenait pratiquement nulle, même en présence du suc embryonnaire. La réaction des graisses est négative (Soudan III et sulfate de bleu de Nil). L'altération ballonnisante de ces éléments est donc tout à fait différente des altérations de vieillissement spontané que présentent ordinairement les cellules *in vitro*. Dans ce dernier cas, il s'agit, comme on le sait, d'une altération polivacuolaire progressive avec accumulation de graisse. Encore faut-il souligner la moindre précocité de cette lésion, laquelle n'est apparue que plus tard (après 3 à 4 jours) dans les cultures de contrôle. Rhoda Erdmann a démontré d'ailleurs que l'héparine ralentit de vingt-quatre heures l'évolution et le métabolisme des cultures, ce qui permet de les repiquer vingt-quatre heures plus tard que les cultures en plasma non hépariné. L'altération ballonnisante diffère donc de la stéatose polivacuolaire autant par sa morphologie (et son absence de réaction des graisses) que par son évolution. Il nous paraît donc loisible d'admettre qu'il s'agit d'un trouble spécifique de l'osmose relevant de l'action toxique du sérum anticellulaire.

Les tissus hétérologues homogènes (foie, rein et rate embryonnaires de chien) ne présentaient pas encore de lésions en quarante-huit heures, ni de graisse appréciable.

Dans les cultures de myocarde témoin, les éléments de la zone

d'invasion correspondent souvent au type de croissance musculaire. Il s'agit parfois de bourgeons en continuité avec le fragment initial, ou bien de bandelettes pourvues de plusieurs noyaux. Ces formations paraissent se résoudre, à leur bout périphérique, en éléments libres à un seul noyau, de forme allongée, mais généralement plus trapus que les cellules fusiformes typiques pour la croissance de type conjonctif (fibroblastes). Ces derniers éléments paraissent toutefois prédominer de beaucoup; les éléments amiboïdes également sont assez nombreux.

TABLEAU II

Action du sérum anti-myocarde de chien sur :

a) ***Tissu hétérogène homologue*** **(cœur de lapin, souris, poulet, homme);**

b) ***Tissus hétérogènes hétérologues*** **(foie, rein et rate de lapin).**

SÉRIE	ESPÈCE ANIMALE	TISSU	MILIEU DE CULTURE					NOMBRE total des cultures	NOMBRE des cultures actives	% des cultures actives
			Plasma homogène	Sol Tyrode	Complément	Sérum actif	Sérum normal			
VI (a)	Lapin	cœur	+++	+	+	+	ø	40	18	45 %
	»	»	+++	+	+	ø	+	12	10	83 %
	»	»	+++	++	+	ø	ø	4	3	75 %
	»	»	+++	++	ø	+	ø	4	2	50 %
	»	»	ø	+++	ø	ø	ø	4	ø	—
VIII	Souris	cœur	+++	+	+	+	ø	32	21	65 %
	»	»	+++	+++	ø	ø	ø	10	8	80 %
XI	Homme	cœur	+++	+	+	+	ø	28	15	53 %
	»	»	+++	++	ø	+	ø	4	2	52 %
	»	»	+++	++ ++	+	ø	+	8	5	62 %
XII	Lapin	cœur	+++	+	+	+	ø	20	8	40 %
	»	»	+++	+	+	ø	+	10	8	80 %
(b)	»	foie	+++	+	+	+	ø	6	5	84 %
	»	»	+++	+	+	ø	+	8	4	66 %
	»	rein	+++	+	+	+	ø	6	6	75 %
	»	»	+++	+	+	ø	+	8	8	100 %
	»	rate	+++	+	+	+	ø	3	3	100 %
	»	»	+++	+	+	ø	+	3	3	100 %
XIV (a)	Poulet	cœur	+++	+	+	ø	+	10	10	100 %
	»	»	++		+	+	ø	15	13	90 %
								235		

Dans le deuxième tableau, il en est de même en ce qui concerne l'action du sérum actif sur des tissus d'autres animaux (tableau II). Les plus sensibles se sont montrés les tissus du lapin, et en particulier le myocarde de cet animal (tissu homologue hétérogène). Les moins sensibles ont été le myocarde de la souris et du poulet, avec (65 % et 80 %) de cultures actives. Enfin, parmi les tissus hétérologues et hétérogènes, tels le rein et le foie de lapin, les cultures actives sont arrivées à 75 % et à 84 %, chiffres variant dans le même sens que ceux obtenus pour les mêmes tissus, mais provenant du chien. Ces faits paraissent indiquer que le sérum antimyocarde de chien est quand même actif envers le myocarde d'autres espèces animales, au degré d'intensité près. Cette fonction anticellulaire paraît s'exercer à la fois sur la division et l'émigration cellulaire. Seulement, dans le cas des cultures positives hétérogènes (tableau II), les lésions cellulaires sont moins apparentes; vu la courte période d'incubation, les cellules ne présentent pas de surcharge graisseuse, pas plus que d'altération ballonnisante d'ailleurs. Cette dernière altération, par contre, est assez manifeste quoique peu fréquente dans les cultures de myocarde hétérogène.

DISCUSSION

L'action des cytotoxines artificielles, comme on le sait, n'est pas spécifique au sens strict du mot; il y a une action prédominante sur l'un ou l'autre des tissus de l'organisme représentant ce que l'on pourrait appeler l'*orto-antigène cellulaire*. Seulement, d'autres tissus du même organisme sont également atteints. Il est vrai que, parmi ces derniers, d'aucuns ont pu agir comme *para-antigènes cellulaires* ayant été inoculés au même temps que l'orto-antigène cellulaire, auquel ces éléments adhèrent intimement; tel est le cas du stroma des organes parenchymateux, stroma dont on ne peut pas, du moins avec nos moyens actuels, débarrasser l'élément parenchymateux, vraiment spécifique. Un broyage de tissu à stroma fibreux représente, évidemment, une suspension de plusieurs éléments cellulaires, lesquels peuvent en principe se manifester comme autant d'antigènes. L'injection d'un pareil broyage de tissus mixtes conduit inévitablement à la préparation d'un sérum cytotoxique polyvalent. Mais, en dehors de cette non spécificité obligatoire, il en est une autre que l'on ne peut pas éviter puisque déterminée par la *continuité du cyto-*

plasme vivant, même divisé en cellules. C'est en effet la conclusion à laquelle nous amènent toutes ces études sur les sérums anticellulaires. Le cytoplasme vivant, même divisé en différentes unités cellulaires, reste plus ou moins continu d'une cellule à l'autre. Qu'il s'agisse de ponts cytoplasmiques permanents, tout au moins constants, — comme on en trouve dans le corps muqueux de Malpighi et dans les canalicules des systèmes haversiens, — ou bien de connexions mobiles, ces éléments n'en restent pas moins identiques les uns aux autres. Il y a, naturellement, des différences plus ou moins prononcées d'un tissu à l'autre, sous la dépendance de la différenciation morphologique et fonctionnelle propre à chacun de ces éléments, lesquels gardent quand même des analogies chimiques profondes reliant ensemble tous ces types cellulaires pour en former une même famille ou groupe antigénique, à l'intérieur duquel les antisérums exerceront fatalement des actions de groupe. Nous connaissons d'une manière encore très imparfaite la constitution chimique des différentes cellules de l'organisme pour pouvoir préciser la division en groupes antigéniques possibles, d'autant plus que nous ne pouvons pas isoler chacun de ces types cellulaires praticipant à la formation d'un tissu parenchymateux (1).

Certains tissus paraissent pourtant posséder une valeur antigénique propre : tels sont le cristallin (Uhlenhut, Romer, Witebsky), le cerveau (Witebsky et Steinfeld), les cellules sexuées (Métalnikoff, Adler et Dunbar).

L'action cytotoxique des antisérums est très évidente comme on le sait, dans le cas des hématies; elle est moins évidente, mais toujours très nette pour les épithéliums ciliés (von Dungern), les spermatozoïdes (Landsteiner, Metschnikoff, Moxter, London, etc), les leucocytes (Metschnikoff), les cellules du corps luteum (Lichtwitz). Il convient de remarquer que tous ces éléments sont libres à l'état isolé, unicellulaires, comme les éléments du sang et du sperme. Quant aux cellules ciliées, elles sont connues pour leur activité prolongée même à l'état supra-vital, dans un milieu simplement protectif.

Il en est tout autrement des cellules fixées par un stroma conjonctif très dense, comme c'est le cas particulièrement pour

(1) Puisqu'il a été impossible d'obtenir des sérums strictement spécifiques, même avec les éléments cellulaires du sang ou du sperme, faciles à obtenir à l'état pur, il paraît nécessaire d'admettre que les cellules des métazoaires représentent des mosaïques d'antigènes beaucoup plus complexes que ceux des bactéries, puisque la structure et la composition des cellules sont de beaucoup plus complexes que celles des bactéries.

le muscle et le myocarde. On a été obligé de rechercher l'action indirecte des cytotoxines artificielles. La déviation du complément représente évidemment la méthode la plus commode à ce point de vue.

Toutes ces recherches s'appliquent à l'action des antisérums obtenus par préparation convenable d'un animal, et non pas à l'action cytotoxique normale et spontanée que peuvent exercer certains sérums, phénomène longuement étudié par London, Sachs, Flexner et Noguchi, Noguchi, Hess, Römer, etc.

Seulement, comme nous l'avons déjà fait remarquer, l'étude même de l'action des sérums cytotoxiques n'est pas toujours facilement réalisable. L'action qu'ils peuvent exercer *in vivo* est loin d'être quantitative et constante, élective et spécifique, puisque le sérum anticellulaire est fortement dilué, réparti au *prorata* de la circulation locale et très influencé par la défense humorale de l'organisme. Leur étude sérologique, d'autre part, est particulièrement difficile pour les tissus à stroma très dense : tel est le cas de tous les tissus de l'organisme, à l'exception du sang et du sperme. Dans le cas de ces tissus à fort stroma conjonctif, la méthode des cultures *in vitro* reste, paraît-il, la méthode d'élection, tout en nous rappelant que, de cette manière, on n'arrive à étudier que les fonctions végétatives du tissu cultivé, à l'exception de ses fonctions spécifiques *in vivo*.

CONCLUSIONS

Les résultats de ces recherches confirment les faits précédemment connus (Lambert et Hanes, Foot, Lumsden) se rapportant aux cultures *in vitro* : les sérums anticellulaires ne sont pas spécifiques au même sens et dans la même étendue que les sérums antimicrobiens. Le sérum antimyocardique que nous avons eu à étudier n'était pas particulièrement actif au point de vue de ses réactions sérologiques; pourtant, son action sur les cultures de tissus *in vitro* a été suffisamment nette : forte réduction de croissance pour les cultures homogènes et homologues (myocarde de chien); réduction peu intense, mais constante et appréciable pour les cultures de contrôle.

Ces recherches contribuent à souligner toute l'importance de la méthode des cultures *in vitro* pour l'étude des sérums cytotoxiques, dont l'action *in vivo* n'est pas toujours facile à mettre en évidence.

BIBLIOGRAPHIE

CANTACUZÈNE (J.) : « Sur les variations quantitatives et qualitatives des globules rouges provoquées chez le lapin par les injections de sérum hémolytique. » (*Ann. Inst. Past.*, 1900, p. 378.)

CRACIUN (E.) et NICOLESCU (H.) : « Propriétés sérologiques d'un sérum antimyocardique. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1931.)

CRACIUN (E.) et SORESCU (A.) : « Sérum antimyocardique et cultures de tissus. » (*C. R. Soc. Biologie*, 1931 ; « Réunion roumaine de biologie », séance du 15 janvier 1931.)

ID : « Méthode de préparation d'un sérum antimyocardique. » (*Ibid.*, 1931.)

GRAETZ (F.) : *Ergebnisse der Hyg. Bakt. Immunol. u. exper. Pathol.*, 6, 1924, p. 397.

HADDA et ROSENTHAL : « Studien über den Einfluss der Hämolysine auf die Kultur lebender Gewebe ausserhalb des Organismus. » (*Zs. f. Immun.*, 16, 1913, p. 524.)

LAMBERT (R.-A.) et HANES (F.-M.) : « A study of cancer immunity by the method of cultivating tissues outside of the body. » (*Journ. exp. Med.*, 13, 1911, p. 395.)

LUMSDEN (TH.) : « Observations upon the effect of an antiserum upon cancer cells *in vitro*. » (*Lancet*, 1925, p. 208. *Ibid.*, 1927, p. 116.)

METSCHNIKOFF (E.) : « Les cytotoxines. » (*Rev. gén. des Sc.*, 1901.)

THEOHARI et BABES (A.) : « Ueber ein Gastrotoxin. » (*Zbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat.*, 14, 1903, p. 420.)

WITEBSKY (E.) : « Betrachtungen zur Pathogenese metasyphilitischer Erkrankungen. » (*Münch. med., W.*, 45, 1927, p. 1914.)

ID. : « Zur Frage der paroxysmater Hämoglobinurie. » (*Kl. Woch.*, 1, 1928, 20.)

RECHERCHES SUR LA VACCINATION ANTIRABIQUE AVEC DU VIRUS DES RUES FORMOLÉ

par

M. GALEA

(Travail du Laboratoire de la Clinique des Maladies contagieuses)

La vaccination des animaux domestiques contre la rage, sur une large échelle, à la clinique des maladies contagieuses de la Faculté de Médecine vétérinaire, a commencé en l'année 1924.

La méthode de vaccination utilisée pour l'immunisation des chiens, ainsi que d'autres animaux mordus par des chiens enragés ou suspects de rage, était la méthode de dilution de Högyes. On employa comme antigène le virus des rues à la place du virus fixe. Le traitement consistait en une série de dix injections, faites à l'intervalle de vingt-quatre heures, en commençant par la dilution de 1 : 5000 pour arriver, le dixième jour, à la dilution de 1 : 200.

Cette méthode de dilution a donné des résultats encourageants, car les insuccès de vaccination postvaccinaux, au point de vue pratique, étaient négligeables survenant sur les animaux, surtout des chiens, qui avaient des morsures multiples et graves et qui avaient été présentés trop tard au traitement, probablement avec une courte période d'incubation, la maladie apparaissant quelques jours après la fin du traitement, ou même pendant le traitement. Le fait intéressant est que ces chiens ont présenté des symptômes typiques de rage paralytique et jamais on n'a observé la forme furieuse de la rage. Malgré ces résultats, on a renoncé d'employer cette méthode, car l'antigène étant un virus des rues non atténué, il présente un danger pour l'opérateur et donne un pourcentage d'insuccès.

On pourrait recommander cette méthode aux docteurs vétérinaires praticiens, car en province, dans les cas urgents, ils peuvent

préparer le vaccin nécessaire avec le cerveau de l'animal mordeur.

En 1928, nous avons commencé à vacciner avec un antigène préparé avec du formol, d'après la formule de Plantureux.

A la clinique des maladies contagieuses, on a utilisé le vaccin formolé préparé avec les deux virus. Les vaccinations pratiquées ont démontré que le vaccin formolé, préparé avec du virus des rues, confère aux animaux inoculés une résistance plus prononcée que celle obtenue à la suite de la vaccination avec du virus fixe par la même méthode. La vaccination des chiens mordus par des animaux enragés ou suspects, avec de l'antigène formolé à 4 ‰, préparé avec le cerveau des chiens morts de la rage des rues, a donné de bons résultats et a été appliquée chez un grand nombre d'animaux.

Poursuivant le côté pratique de la vaccination antirabique, qui est de trouver une méthode sûre et rapide de préparation de l'antigène, laquelle puisse être exécutée même par un praticien pourvu de peu d'ustensiles de laboratoire, nous avons entrepris une série de recherches assez concluantes.

De ces recherches, il résulte qu'en formolant en proportion de 1 % une émulsion de substance nerveuse rabique, provenant d'un chien mort de la rage des rues en dilution de 1 : 20, dans de la solution physiologique, cette émulsion, après un séjour de vingt-quatre heures à 16-18°, devient complètement inactive, en gardant une activité antigénique remarquable.

Les expériences que nous avons faites chez le lapin, en lui inoculant 60 centicubes répartis en trois injections, faites à un intervalle de deux jours, nous ont prouvé que ce vaccin confère à cet animal, après 15 à 16 jours, une immunité assez solide pour résister à l'épreuve de contrôle intra-oculaire.

Mais, considérant que la quantité de 60 centicubes, c'est-à-dire 3 grammes de substance nerveuse, est trop grande pour un lapin, j'ai entrepris une nouvelle série de recherches pour déterminer la quantité minime d'antigène nécessaire pour immuniser solidement un lapin. Dans cette série d'expériences, l'émulsion rabique a été diluée 1 : 10 en solution physiologique.

Avec le vaccin formolé à 1 %, préparé avec le cerveau d'un chien mort de la rage le 23 juin 1930, et qui présentait des symptômes de rage furieuse, ont été inoculés 12 lapins le 25 juin 1930. Ces lapins ont été répartis en trois lots, d'après la quantité de vaccin inoculée.

Lot I. — 4 lapins (H 1 qi, H 192, H 193, H 194) ont reçu, le 25 juin 1930, 20 centicubes d'émulsion en une seule injection.

Remarques. — L'injection a été très bien supportée, aucun des lapins n'a présenté de réaction locale ou générale immédiate, ou tardive.

Après 23 jours, c'est-à-dire le 18 juillet 1930, tous les 4 lapins ont été soumis à l'infection intra-oculaire.

Tous ont résisté avec succès à la sévère épreuve de contrôle et vivent encore après cinq mois.

Deux cobayes (111 et 136) inoculés à la même date, pour le contrôle de l'émulsion virulente, sont morts de la rage les quinzième et seizième jours après la trépanation.

Lot II. — 3 lapins (H 195, H 196, H 197) ont été vaccinés le même jour que les lapins du premier lot, avec 10 centicubes d'antigène formolé à 1 %. On ne remarque aucun signe d'intolérance au vaccin. Après 23 jours, les lapins sont soumis à l'épreuve intra-oculaire. Les résultats ont été les suivants.

Le lapin H 196 est mort de la rage le 6 août 1930, c'est-à-dire 19 jours après l'épreuve infectante.

Le lapin H 197 est mort d'une maladie intercurrente (Pasteurelose) 9 jours après l'épreuve. Dans les sections faites de la corne d'Ammon, on n'a pas trouvé de corpuscules de Negri.

Le lapin H 195 vit encore aujourd'hui en parfaite santé (26 novembre 1930).

Lot III. — 3 lapins (H 198, H 199, H 300) vaccinés avec 5 centicubes chacun, en même temps que les lapins du lot I et deux lapins soumis à l'épreuve de contrôle intra-oculaire, ont donné le résultat suivant :

Le lapin H 199 vit encore en partait état le 26 novembre 1930.

Les deux autres lapins sont morts de rage : l'un (H 198) le 15 août 1930, c'est-à-dire après 28 jours, et l'autre (H 200) le 3 août, c'est-à-dire le quinzième jour.

Conclusions. — Des expériences précédentes, il ressort que la vaccination antirabique, avec du virus des rues formolé à 1 %, préserve les lapins, dans la proportion de 100 %, contre l'infection intra-oculaire, faite 23 jours après, si la quantité d'antigène employée est au moins de 20 centicubes, quantité qui correspond à 2 grammes de substance rabique atténuée.

Des quantités moindres (5-10 centicubes) ne mettent pas à l'abri de l'infection intra-oculaire faite 23 jours après la vaccination. La majorité des lapins meurent de l'infection avec une prolongation de la période d'incubation en comparaison des lapins témoins. Des recherches ultérieures détermineront les con-

ditions dans lesquelles ce vaccin formolé à 1 % conserve ses propriétés antigènes, ainsi que la durée du titre initial.

Quelles que soient les méthodes employées pour immuniser l'homme ou les animaux contre la rage, elles ont un grand inconvénient, qui est la période qui s'écoule entre la vaccination et la production de l'immunité (8-12 jours).

La période d'incubation est variable, plus courte en cas de morsures superficielles aux extrémités riches en filets nerveux terminaux, et plus longue en cas de morsures superficielles situées dans des régions moins riches en filets nerveux et enveloppées avec des productions fibreuses abondantes.

En cas de morsures graves, il arrive souvent, surtout chez les animaux, que le traitement institué n'ait pas un résultat voulu et que le patient meure de rage, insuffisamment préservé par la vaccination.

Nous savons que l'immunité dans la rage s'établit au bout de 10-16 jours après la vaccination, et elle se traduit par la présence d'anticorps spécifiques dans les humeurs de l'organisme vacciné. Il en est question si la présence d'anticorps rabiques est suffisante pour mettre l'organisme respectif à l'abri de l'infection rabique. Des recherches expérimentales ont démontré que le sérum antirabique, même à titre élevé, est incapable de neutraliser le virus rabique *in vivo*. En vérité, l'inoculation du sérum antirabique chez un animal, même en grandes quantités, ne prévient pas la rage et l'animal meurt d'infection presque en même temps que le témoin. Il ne faut pas chercher le mécanisme de l'immunité dans la rage seulement, dans les humeurs, mais aussi dans les tissus qui ont une affinité spécifique pour le virus rabique.

Des essais de vaccination locale ont été faits par Remlinger, par A. Marie et par d'autres, en inoculant le vaccin antirabique même dans les hémisphères cérébraux. Les résultats ont été tout à faits négatifs, car les animaux inoculés, soumis à l'épreuve de contrôle, n'ont pas résisté à l'infection rabique. Les travaux de Levaditi, sur les virus ectodermo-neurotropes, ont démontré qu'entre l'appareil cutané et le système nerveux central, il existe une relation intime au point de vue de l'immunité dans les maladies attribuées à ces virus.

Besredka, dans ses travaux sur le rôle de l'appareil cutané dans les maladies infectieuses, insiste sur la possibilité de vacciner l'organisme entier en immunisant les cellules réceptives contre l'agent pathogène. A la clinique des maladies contagieuses, nous avons observé des chiens qui présentaient des morsures à la

face et qui ont été soumis au traitement antirabique avec un retard de 5-6 jours, qui sont morts de la rage quelques jours après la terminaison des injections. Ces insuccès, nous devons les attribuer à la courte période d'incubation dans laquelle l'organisme a été surpris par l'infection dans la période critique, et alors l'animal vacciné se comporte comme un animal non vacciné.

Pour prévenir ces accidents, j'ai eu recours à d'autres voies d'immunisation que celle hypodermique : 1° dans le but de voir si on pouvait vacciner les animaux contre la rage par d'autres voies ; 2° pour rechercher si cette immunité apparaît plus rapidement que celle conférée par l'inoculation de l'antigène par voie hypodermique, et 3° pour voir si cette immunité est accompagnée de la présence des anticorps.

Dans les expériences qui suivent, je montrerai les résultats obtenus chez les chiens et chez les cobayes à la suite des injections intracutanées et intraveineuses. Ces recherches ont été faites avec un autovaccin antirabique préparé avec le cerveau de plusieurs chiens succombés à la suite de l'infection avec du virus des rues. On formolait l'émulsion rabique à 1/10 en solution physiologique avec du formol 4 : 1000. Cet antigène peut être considéré, jusqu'à un certain point, comme polyvalent, car l'émulsion nerveuse rabique provient de plusieurs chiens morts de la rage à la suite des morsures. Or, dans la nature, nous avons des virus rabiques de différentes activités, en commençant avec ceux qui donnent la rage avec une période d'incubation très longue jusqu'à des virus très agressifs qui ont une période d'incubation très courte, très approchée de celle du virus fixe. Ce vaccin est employé à la clinique des maladies contagieuses pour immuniser les chiens, ainsi que d'autres animaux mordus ; par voie hypodermique, j'ai immunisé 6 chiens répartis en deux lots de 3 chiens pour chaque lot.

Lot I. — 3 chiens ont été cutivaccinés de la manière suivante :

Le premier jour, chaque chien reçoit 3 centicubes du vaccin antirabique préparé comme il a été indiqué ci-dessus. Cette quantité d'antigène a été répartie en cinq piqûres séparées, intradermiques, dans la région spino-lombaire préalablement rasée. Après 3 jours, ils ont encore reçu en injection, dans le derme, 3 centicubes du vaccin antirabique répartis en dix piqûres.

Après 5 jours de la deuxième inoculation, ils ont été cutivaccinés avec 5 centicubes de vaccin en vingt-cinq piqûres séparées. Les chiens n'ont présenté aucun signe d'intolérance à cette méthode d'immunisation.

Les petites indurations à l'endroit de l'injection ont disparu rapidement sans laisser de traces.

Les 6 chiens ont été soumis à l'épreuve de contrôle intra-oculaire, en même temps qu'un chien témoin, après 14 jours de la cutivaccination.

Observations. — Le chien témoin est mort de la rage 15 jours après l'inoculation d'épreuve. On n'a pas trouvé de corpuscules de Negri dans la corne d'Ammon, mais l'inoculation sous-durale, après trépanation à deux lapins, a donné un résultat positif. Un des chiens vaccinés est mort d'une maladie intercurrente 4 jours après l'épreuve de contrôle (broncho-pneumonie de nature spécifique de la maladie du jeune âge). Les deux autres chiens n'ont présenté aucun symptôme de rage et sont en vie après 168 jours. Pendant cet intervalle, ils ont encore été inoculés dans l'œil, avec une émulsion infectante, après 15 jours de la première épreuve de contrôle.

Lot II. — Aussi, dans ce groupe comme dans le premier, nous avons eu 3 chiens.

A la première inoculation, chaque chien a reçu 5 centicubes de vaccin en injection intradermique.

Après 2 jours, les chiens ont reçu 10 centicubes de vaccin et, enfin encore, après 2 jours, ils ont reçu 10 centicubes chacun de vaccin formolé.

Ces vaccinations ont été faites en plusieurs points (en nappes). Aucun des animaux inoculés n'a présenté le moindre signe d'intolérance.

Les chiens ont été soumis à l'épreuve de contrôle intra-oculaire vingt-quatre heures après la dernière inoculation.

Pour le contrôle de la virulence de l'émulsion rabique qui a servi à l'épreuve infectante, nous avons fait l'inoculation sous-durale à un lapin.

Observations. — Le lapin témoin est mort de la rage 16 jours après l'inoculation.

Un des chiens est mort 15 jours après l'épreuve infectante. Dans les sections faites des cornes d'Ammon, on n'a pas trouvé de corpuscules de Negri ; l'inoculation sous-durale a donné des résultats négatifs.

Les deux autres chiens vivent encore après 106 jours de l'infection de contrôle. De cette série de recherches, il ressort que l'immunisation des chiens contre la rage est possible au moyen de l'antigène formolé à 4 ‰, inoculé en nappe dans la peau.

L'immunité acquise est tellement solide que les animaux résistent à l'épreuve intra-oculaire faite vingt-quatre heures après la vaccination. Des recherches ultérieures vont démontrer la quantité minime d'antigène nécessaire pour l'obtention de l'immunité et le temps nécessaire pour que l'animal cutivacciné puisse devenir réfractaire, la durée de cette immunité, ainsi que la présence ou l'absence des anticorps spécifiques décelables dans l'organisme vacciné avec le vaccin formolé. A la suite de ces résultats obtenus chez le chien, nous avons fait une autre série de recherches pour insister sur certains avantages que présenterait, au point de vue pratique, cette méthode d'immunisation.

Dans ce travail, nous avons choisi comme animal d'expérience le cobaye, dont la réceptivité pour le virus rabique est bien connue.

Nous avons employé, pour la cutivaccination antirabique du cobaye, le vaccin formolé à 1 %. Pour sa préparation, nous avons employé la technique suivante : le 14 août 1930, un cerveau de chien mort de la rage des rues, prélevé aussitôt après la mort de l'animal dans des conditions d'asepsie rigoureuse, est émulsionné à 1 pour 20 dans du sérum physiologique et additionné de 1 % de formol. L'émulsion ainsi formolée est conservée à la température de la chambre pendant vingt-quatre heures. Au bout de ce temps, elle est centrifugée jusqu'à la sédimentation complète de la substance nerveuse (environ quinze minutes à 3500-6000 tours par minute). Après décantation du liquide limpide surnageant, qui contient le formol non fixé par la substance nerveuse, le dépôt est émulsionné de nouveau dans une même quantité de sérum physiologique stérile.

Le 18 août 1930, nous avons inoculé en une seule séance 6 cobayes, dans le derme, en nappes :

I.	2	cobayes	(12-13)	ont reçu	dans	le derme	chacun	2	ctc. vaccin.
II.	2	—	(14-15)	—	—	—		4	— —
III.	2	—	(16-17)	—	—	—		5	— —

Tous les cobayes ont bien supporté cette cutivaccination. Après 9 jours (27 août 1930), ils ont été soumis à l'épreuve d'inoculation intra-oculaire, en même temps que deux témoins.

A chacun des cobayes témoins (18-23), on inocula 0 ctc. 1 d'émulsion épaisse rabique dans la chambre antérieure de l'œil.

Observations. — Les cobayes témoins sont morts de la rage 19 et 20 jours après l'épreuve intra-oculaire.

Les cobayes cutivaccinés sont morts aussi de la rage dans les délais suivants après l'épreuve infectante :

I.	Les cobayes	(12-13)	cutivaccinés	avec	2	ctc. vaccin sont morts après 13 et 18 jours.
II.	—	(14-15)	—	—	4	ctc. vaccin sont morts après 25 et 28 jours.
III.	—	(16-17)	—	—	5	ctc. vaccin sont morts après 19 et 17 jours.

Seulement, les cobayes n^{os} 14 et 15, qui ont été cutivaccinés avec 4 centicubes d'antigène, ont eu une plus longue période d'incubation.

Des expériences relatées, on pourrait conclure à un échec complet de la cutivaccination chez le cobaye avec du vaccin formolé. Malgré ces résultats négatifs, nous pouvons les attribuer à la petite quantité d'antigène employée (0 gr. 20, 0 gr. 40, 0 gr. 50 de substance nerveuse rabique), ainsi qu'à l'épreuve trop sévère de contrôle et la réceptivité connue du cobaye pour la rage. Des recherches en cours montreront la cause de cet échec.

Poursuivant le même but, l'immunisation rapide et solide des animaux contre la rage, j'ai essayé d'immuniser des chiens par l'inoculation du vaccin dans les veines.

Galtier d'abord et, après, Roux et Nocard ont démontré qu'on peut vacciner les herbivores contre la rage en leur injectant la matière virulente dans les veines. On avait essayé cette méthode aussi chez les carnivores, mais avec des résultats défavorables, car la majorité des chiens inoculés dans les veines avec des émulsions rabiques ont pris la rage ; seulement, une partie a échappé et ils sont devenus réfractaires à cette maladie.

Dans ce but, j'ai essayé d'immuniser les chiens avec du vaccin formolé à 4 ‰ par voie intraveineuse.

Pour cette expérience, j'ai employé 4 chiens qui ont reçu chacun 25 centicubes du vaccin dans les veines. Le premier jour, nous leur avons injecté 5 centicubes du vaccin dans la veine saphène externe. Après 3 jours, ils ont reçu la deuxième inoculation intraveineuse de 10 centicubes. Encore, après 8 jours, ils ont reçu la même quantité.

Déjà, après la première inoculation, on observe un phénomène alarmant qui doit être évité si on pense employer cette méthode pour vacciner les chiens contre la rage. Cet accident de vaccination se produit même à la première inoculation intraveineuse, pendant l'injection, et consiste en une réaction brusque et très

alarmante extériorisée par une dyspnée violente, accompagnée de cris douloureux, un regard hagard de l'animal qui tient la gueule entr'ouverte et fait des inspirations profondes et rares. Peu de temps après ces symptômes, on remarque une pollakiurie accompagnée d'expulsion de matières fécales diarrhéiques. On observe toujours des vomissements. Ces phénomènes ont été constatés chez tous les chiens sans exception. Leur durée, au commencement, était de quelques secondes et tout rentrait dans le normale, les chiens reprenaient leur gaieté, mangeaient et buvaient comme auparavant. A la deuxième inoculation, les phénomènes étaient plus accentués, duraient plus longtemps et atteignaient le maximum possible à la troisième injection faite le onzième jour après la deuxième. Même pendant les premières quantités d'émulsion injectées, les chiens sont tombés dans le coma. Les symptômes décrits ci-dessus ont été beaucoup plus violents. Dans deux cas (des 4 chiens injectés), j'ai observé la syncope respiratoire et il a été nécessaire de faire la respiration artificielle pour sauver les animaux. Les phénomènes étaient plus durables, se prolongeant jusqu'à quinze minutes. Les animaux se remettaient peu à peu, mais ils restaient tristes, avec le regard fixe, avaient les yeux larmoyants ; ils étaient indifférents quand on les appelait et ils refusaient les aliments. Leur remise en état complète survenait à peine le troisième jour.

Nous pouvons attribuer ces accidents aux embolies produites par l'émulsion vaccinale qui n'était peut-être pas assez fine.

Ils peuvent être attribués aussi au formol qui existe dans ce vaccin, encore non fixé sur la substance nerveuse. Nous avons remarqué d'ailleurs ce fait aussi aux injections sous-cutanées, surtout chez les chiens de race et jeunes, quand la substance nerveuse n'était pas débarrassée du formol libre par des lavages répétés. Les accidents survenaient dans ces cas beaucoup plus tard et étaient beaucoup plus atténués. Une autre cause de ces accidents pourrait être la toxicité de la substance nerveuse atténuée par le formol.

L'anaphylaxie pourrait aussi être invoquée dans la production des accidents mentionnés après la dernière injection, faite 11 jours après la première, et qui ont été beaucoup plus graves et apparaissaient, immédiatement après l'injection, à la manière des chocs ressemblant par son cortège symptomatique, jusqu'à un certain point, avec le choc classique anaphylactique.

L'antigène inoculé étant une protéine provenant de la même espèce (chien), cette opinion paraît peu fondée. Mais un cerveau

rabique de chien, émulsionné dans du sérum physiologique et formolé à 1 ‰-4 ‰, pendant le temps nécessaire à l'atténuation, peut souffrir quelques transformations au point de vue de la molécule protéique, ainsi que le produit obtenu qui se comportera comme une protéine étrangère s'il est inoculé à un animal de la même espèce.

Après 14 jours (9 août 1930), ce lot de lapins a été soumis à l'épreuve intra-oculaire de contrôle, ainsi qu'à l'épreuve intramusculaire.

De ces 4 chiens, 2 ont été inoculés avec 0 ctc. 2 d'une épaisse émulsion rabique dans la chambre antérieure de l'œil. Les deux autres chiens ont reçu chacun 2 centicubes de la même émulsion dans les muscles de la nuque. Cette émulsion rabique tuait le lapin témoin en 16 jours.

Observations. — Tous les chiens vaccinés de la manière ci-dessus étaient immunisés contre la rage, et aucun d'eux n'a contracté la rage jusqu'à ce jour (27 novembre 1930).

Il ressort de ces expériences qu'on peut vacciner solidement les chiens contre la rage, en leur inoculant le vaccin formolé à 4 ‰ dans les veines. Ce vaccin présente le grand inconvénient qu'il produit de très grandes réactions quand on l'applique en injections intraveineuses.

CONCLUSIONS

Il résulte de ces expériences que le virus des rues formolé à 1 % peut servir pour la vaccination des lapins et des chiens :

1° La quantité minimale de vaccin nécessaire pour l'immunisation des lapins est de 20 centicubes, laquelle correspond à 2 grammes de substance nerveuse rabique ;

2° Avec le vaccin formolé à 4 ‰, on peut vacciner si activement les chiens contre la rage qu'ils résistent à l'épreuve de contrôle intra-oculaire faite vingt-quatre heures après la vaccination ;

3° Dans les conditions de l'expérience, nous n'avons pas réussi à cutivacciner les cobayes contre la rage par inoculation, en une seule séance, de 2 à 4 grammes de vaccin formolé à 1 % ;

4° L'inoculation de 25 grammes de vaccin formolé à 4 ‰, par voie intraveineuse chez le chien, produit une immunité si active que les animaux résistent à l'épreuve de contrôle intra-oculaire faite 14 jours après les inoculations.

BIBLIOGRAPHIE

BABES (V.) : *Traité de la rage*, 1912.

BESREDKA (A.) : *Immunisation locale*, Paris, 1925.

ID. : « *Etudes sur l'immunité dans les maladies infectieuses*, 1929.

ID. : « *Le choc anaphylactique et le principe de la désensibilisation*, Paris, 1930.

ID. : *Antivirusthérapie*, Paris, 1930.

CALABRESE : « Sur l'existence dans la nature d'un virus rabique renforcé. » (*Ann. Inst. Past.*, 1896.)

COSTE, BERGER et PLACIDI : « Essai de vaccination antirabique par un vaccin formolé. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1927, p. 293.)

GALTIER : « Les injections du virus rabique dans le torrent circulatoire. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1881.)

ID. : « Nouvelles expériences sur l'inoculation antirabique en vue de préserver les animaux herbivores. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1888.)

MARIE (A.) : *L'étude expérimentale de la rage*, Paris, 19 .)

ID. : « Recherches sur le sérum antirabique. » (*Ann. Inst. Past.*, 1905, p. 1.)

ID. : « De l'activité des sérums antirabiques. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1907, p. 228.)

ID. : « Recherches sur le sérum antirabique. » (*Ann. Inst. Past.*, 1907, p. 271.)

ID. : « De quelques propriétés du sérum antirabique. » (*C. R. Soc. Biol.*, juin 1904.)

MARIE (A.) et MUTERMILCH : « Essais de vaccination antirabique du lapin par la voie méningée. » (*C. R. Acad. des Sc.*, 1927, p. 911.)

ROUX et NOCARD : *Ann. Inst. Past.*, n° 17, 1888.

LEVADITI (C.) : *Ectodermoses neurotropes*, Paris, 1922.

REMLINGER : « Mort subite du lapin au cours d'inoculation sous-cutanée de substance nerveuse homologue. » (*Ann. Inst. Past.*, 1920, p. 650.)

ID. : « Contribution à l'étude du sérum antirabique. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1907, p. 961.)

ID. : « Absence d'anaphylaxie au cours des injections sous-cutanées du virus rabique et de sérum antirabique. » (*Ibid.*, 1906, p. 475.)

REMLINGER (P.) et BAILLY (G.) : « La vaccination locale dans la rage. » (*Ann. Inst. Past.*, 1928, p. 349.)

ID. : « La vaccination locale dans la rage. Echec de la vaccination intra-cérébrale. » (*Ibid.*, 1928, p. 736.)

TABLE DES MATIÈRES

(TOME III. — 1930)

Sur une épidémie d'entérite dysentériforme due à une salmonellose, par I. Balteanu, G. Calalb, E. Alexa et S. Ecstein 5

Une nouvelle maladie du maïs en Roumanie provoquée par Nigrospora oryzæ (B. et Br. Petch), par Tr. Savulescu et T. Rayss..... 41

Sur la présence des corps d'Auer et sur un aspect anormal de la substance azurophile des leucocytes dans le sang d'une leucémique, par A. Craciuneanu, G. Calalb et Olga Bonciu..... 55

Contribution à l'étude de la relation pathogénique entre la leucémie aiguë et l'infection septique, par Olga Bonciu et V. Ionesco..... 65

Recherches sur l'action thérapeutique de la plasmochine pure dans le paludisme, par M. Ciuca, G. Irimesco, L. Ballif, M. Franke, I. Constantino et M. Vieru..... 85

Sur certaines causes possibles d'erreur dans les indications fournies par les réactions biologiques du liquide céphalo-rachidien, par C. Goresco et C. Popesco..... 95

Contributions à l'étude des tumeurs bactériennes chez les algues marines, par M.-A. Cantacuzène 101

Etude sur les substances solubles des bacilles du groupe des salmonelloses, par D. Combiesco, S. Stamatesco et E. Soru 189

Immunité dans le paludisme expérimental, par M. Ciuca, L. Ballif et M. Vieru. 209

Contribution au traitement de la scarlatine par le sérum de convalescent, par I. Balteanu, I. Alexa et E. Alexa..... 231

La glycémie chez les lapins intoxiqués expérimentalement par la toxine diphtérique, par V. Nica..... 234

Méthode de préparation du suc embryonnaire à partir d'une pulpe desséchée facilement conservable et son application aux cultures des tissus (note préliminaire), par E.-C. Craciun..... 237

Contributions à l'étude de l'antigène Forssman. Présence de l'antigène hétérophile dans la bactéridie charbonneuse, par D. Combiesco, S. Stamatesco, N. Nestoresco et C. Adam..... 241

Contributions à l'étude du phénomène de la calcification (note préliminaire), par A. Damboviceanu..... 269

Contributions à l'étude morphologique et biologique de quelques strigéidés des oiseaux ichtyophages de la faune de Roumanie (recherches expérimentales), par I. Ciurea..... 277

L'étude de la glycémie dans la spirochétose des gallinacées, par G. Zotta et E. Radacovici 325

Recherches sur le rôle des plaquettes dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes (deuxième mémoire), par Cornelia Popesco-Combiesco 343

Recherches sur les propriétés antigéniques des races « Smooth » et « Rough » du bacille tétanique, par Pierre Condrea 365

Contributions expérimentales au problème de la granulie, par M. Nasta et M. Blechmann 375

Possibilité d'infection par le liquide céphalo-rachidien dans le typhus exanthématique, par I. Gheorghiu 427

L'action d'un sérum anticellulaire sur la croissance des tissus *in vitro*, par E.-C. Craciun et A. Sorescu 435

Recherches sur la vaccination antirabique avec du virus des rues formolé, par M. Galea 449

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

Adam (C.)	Voir Combiesco (D.).
Alexa (E.)	Voir Ciuca (M.).
Alexa (I.)	Voir Balteanu (I.).
Alexa (I.)	Voir Ciuca (M.).
Ballif (L.)	Voir Ciuca (M.).
Balteanu (I.), Calalb (G.), Alexa (I.) et Ecstein (S.).....	Sur une épidémie d'entérite dysentériforme due à une salmonellose. 5
Balteanu (I.), Alexa (I.) et Alexa (E.)	Contribution au traitement de la scarlatine par le sérum de convalescent 231
Blechmann (M.).	Voir Nasta (M.).
Bonciu (O.) et Ionesco (V.).....	Contributions à l'étude de la relation pathogénique entre la leucémie aiguë et l'infection septique..... 65
Bonciu (O.)	Voir Craciuneanu (A.).
Calalb (G.)	Voir Balteanu (I.).
Calalb (G.)	Voir Craciuneanu (A.).
Cantacuzène (A.-M.)	Contributions à l'étude des tumeurs bactériennes chez les algues marines 101
Ciuca (M.), Irimescu (G.), Ballif (L.), Franke (M.), Constantinescu (I.) et Vieru (M.).....	Recherches sur l'action thérapeutique de la plasmochin pure dans le paludisme 85
Ciuca (M.), Ballif (L.) et Vieru (M.)	Immunité dans le paludisme expérimental 209
Ciurea (I.)	Contributions à l'étude morphologique et biologique de quelques strigéidés des oiseaux ichtyophages de la farine de Roumanie..... 277
Combiesco (D.), Stamatesco (S.) et Soru (E.)	Etude sur les substances solubles des bacilles du groupe des salmonelloses 189
Combiesco (D.), Stamatesco (S.), Nestoresco (N.), Adam (C.)...	Contributions à l'étude de l'antigène Forssman. Présence de l'antigène hétérophile dans la bactéridie charbonneuse 241

Condrea (P.)	Recherches sur les propriétés antigéniques des races « Smoth » et « Rough » du bacille tétanique	365
Constantinescu (I.)	Voir Ciuca (M.).	
Cracium (E.)	Méthode de préparation du suc embryonnaire à partir d'une pulpe desséchée facilement conservable et son application aux cultures des tissus (note préliminaire)	237
Craciun (E.) et Sorescu (A.)	L'action d'un sérum anticellulaire sur la croissance des tissus *in vitro*	435
Craciuneanu (A.), Calalb (G.) et Bonciu (O.)	Sur la présence des corps d'Auer et sur un aspect anormal de la substance azurophile des leucocytes dans le sang d'une leucémique	55
Damboviceanu (A.)	Contributions à l'étude du phénomène de la calcification (note préliminaire)	269
Ecstein (E.)	Voir Balteanu (I.).	
Franke (M.)	Voir Ciuca (M.).	
Galea (M.)	Recherches sur la vaccination antirabique avec du virus des rues formolé	449
Gheorghiu (I.)	Possibilité d'infection par le liquide céphalo-rachidien dans le typhus exanthématique	427
Goresco (C.) et Popesco (C.)	Sur certaines causes possibles d'erreur dans les indications fournies par les réactions biologiques du liquide céphalo-rachidien	95
Ionesco (V.)	Voir Bonciu (O.).	
Irimescu (G.)	Voir Ciuca (M.).	
Nasta (M.) et Blechmann (M.)	Contributions expérimentales au problème de la granulie	375
Nestoresco (N.)	Voir Combiesco (D.).	
Nica (V.)	La glycémie chez les lapins intoxiqués expérimentalement par la toxine diphtérique	234
Popesco-Combiesco (C.)	Recherches sur le rôle des plaquettes dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes (deuxième mémoire)	343
Popesco (C.)	Voir Goresco (C.).	
Radacovici (E.)	Voir Zotta (G.).	
Rayss (T.)	Voir Savulesco (Tr.).	
Savulesco (Tr.) et Rayss (T.)	Une nouvelle maladie du maïs en Roumanie provoquée par Nigrospora oryzae (B et Br) Petch	41
Soresco (A.)	Voir Craciun (E.).	
Soru (E.)	Voir Combiesco (D.).	
Stamatesco (S.)	Voir Combiesco (D.).	
Vieru (M.)	Voir Ciuca (M.).	
Zotta (G.) et Radacovici (E.)	L'étude de la glycémie dans la spirochétose des gallinacées	325

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN.

EXD.

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IM... LIBRARY
SERIAL
SEPARATE
Eu. 452

Tome III. — N° 1

Mars 1930

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 1

Mars 1930

MÉMOIRES ORIGINAUX

I. BALTEANU, G. CALALB, E. ALEXA et S. ECSTEIN. — *Sur une épidémie d'entérite dysentériforme due à une salmonellose*. 5

Tr. SAVULESCU et T. RAYSS. — *Une nouvelle maladie du maïs en Roumanie provoquée par nigrospora oryzae (B. et Br.) Petch* 41

A. CRACIUNEANU, G. CALALB, Olga BONCIU. — *Sur la présence des corps d'Auer et sur un aspect anormal de la substance azurophile des leucocytes dans le sang d'une leucémique*. 55

Olga BONCIU et Virgile IONESCO. — *Contribution à l'étude de la relation pathogénique entre la leucémie aiguë et l'infection septique*. . 65

M. CIUCA, G. IRIMESCO, Léon BALLIF, M. FRANKE, I. CONSTANTINESCO, M. VIERU. — *Recherches sur l'action thérapeutique de la plasmochin pure dans le paludisme* 85

C. GORESCO et C. POPESCO. — *Sur certaines causes possibles d'erreur dans les indications fournies par les réactions biologiques du liquide céphalo-rachidien* 95

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
— LEVRY —
SERVICE
SEPARATE
Eu. H52

Tome III. — N° 2

Juin 1930

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 2

Juin 1930

MÉMOIRES ORIGINAUX

M. A. CANTACUZÈNE. — *Contribution à l'étude des tumeurs bactériennes chez les algues marines* 101

D. COMBIESCO, S. STAMATESCO et E. SORU. — *Etude sur les substances solubles spécifiques des bacilles du groupe des salmonelloses* 189

CIUCA, L. BALLIF et M. VIERU. — *Immunité dans le paludisme expérimental* 209

I. BALTEANO, I. ALEXA et E. ALEXA. — *Contribution au traitement de la scarlatine par le sérum de convalescent* 231

V. NICA. — *La glycémie chez les lapins intoxiqués expérimentalement par la toxine diphtérique* 234

E.-C. CRACIUN. — *Méthode de préparation du suc embryonnaire à partir d'une pulpe desséchée facilement conservable et son application aux cultures des tissus (Note préliminaire)* 237

EXD.

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
— LIBRARY —
20 FEB 1936
SERIAL Eu. 452
SEPARATE

Tome III. — N° 3

Septembre 1930

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 3

Septembre 1930

MÉMOIRES ORIGINAUX

D. COMBIESCO, S. STAMATESCO, N. NESTORESCO et C. ADAM. *Contributions à l'étude de l'antigène Forssman. Présence de l'antigène hétérophile dans la bactéridie charbonneuse* 241

A. DAMBOVICEANU. — *Contribution à l'étude du phénomène de la calcification (Note préliminaire)* 269

I. CIUREA. — *Contributions à l'étude morphologique et biologique de quelques strigéidés des oiseaux ichtyophages de la faune de Roumanie (Recherches expérimentales)* 277

G. ZOTTA et E. RADACOVICI. — *L'étude de la glycémie dans la spirochétose des gallinacés* 325

EXD.

ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Publiées sous la Direction de

J. CANTACUZÈNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

IMP. INST. ENT.
— LIBRARY —
20 FEB 1936
Fu. 452

Tome III. — N° 4

Décembre 1930

MASSON & Cie, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Publication périodique trimestrielle

SOMMAIRE DU N° 4

Décembre 1930

MÉMOIRES ORIGINAUX

Cornélia POPESCO-COMBIESCO. — *Recherches sur le rôle des plaquettes sanguines dans l'immunité. La fonction antixénique des plaquettes.* (Deuxième mémoire.) 343

Pierre CONDREA. — *Recherches sur les propriétés antigéniques des races « Smooth » et « Rough » du bacille tétanique.* (Deuxième mémoire.) 365

M. NASTA et M. BLECHMANN. — *Contributions expérimentales au problème de la granulie* 375

I. GHEORGHIU. — *Possibilité d'infection par le liquide céphalo-rachidien dans le typhus exanthématique* 427

E.-C. CRACIUN et A. SORESCU. — *L'action d'un sérum anticellulaire sur la croissance des tissus in vitro* 433

M. GALEA. — *Recherches sur la vaccination antirabique avec du virus des rues formolé* 447

TABLE DES MATIÈRES DU TOME III.